

Untersuchungen über die Entwicklung xenoplastischer Augenchimaeren bei Amphibien

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophischen Fakultät II

der

Universität Zürich

von

Andreas Felix Theodor Fischer

aus Küsnacht und Meisterschwanden

1969

Begutachtet von

Herrn Prof. Dr. P. S. CHEN

1968



Sonderdruck aus
Wilhelm Roux' Archiv 163, S. 81—112 (1969)
Springer-Verlag, Berlin · Heidelberg · New York

Untersuchungen über die Entwicklung xenoplastischer Augenchimären bei Amphibien*

ANDREAS F. TH. FISCHER**

Zoologisch-Vergleichend Anatomisches Institut der Universität Zürich

Eingegangen am 16. Januar 1969

Studies on the Development of Xenoplastic Eye Chimeras in Amphibians

Summary. 1. In order to evaluate the development of the xenoplastic eye chimeras, stages of differentiation of the normal eye in *Bombina variegata*, *Hyla arborea* and *Triturus alpestris* between the second and ninth day after neurulation have been worked out, and the results are summarized in Table I.

2. Four types of chimeric eyes developed after transplantation of the eye-cup anlagen: type I, species-specific donor eye cup with a host lens; type II, host lens with a chimeric eye cup which was made of donor and host material, and appeared morphologically as well as histologically uniform; type III, host and donor parts of the eye cup were each surrounded by their own tapetum nigrum, but formed morphologically a chimeric eye cup of harmonious proportion with a host lens; type IV, chimeric eye of type I with, however, an additional diminished host eye.

3. The histological differentiation of the eye cup of the chimeric eye is autonomous.

4. In the absence of a lens the differentiation of the eye cup is retarded.

5. In chimeric eyes of type I the differentiation of the *Triturus* host lens is normal, whereas that of the *Bombina* host lens shows a slight retardation.

6. After transplantation of the lens anlage several donor and host lenses have frequently been found, possibly due to the autonomous reactivity of the epidermis in the different species. Chimeric or donor lenses were of rare occurrence.

7. The lens size of chimeric eyes is determined by the size and inducing capacity of the eye cup, the duration of the inductive contact as well as the species-specific size of the lens vesicle. The species-specific dimension of the eye cup acts as a limiting factor to the growth of the lens. Thus, the lens index of chimeric eyes with a *Bombina* eye cup is larger, whereas that of chimeric eyes with a *Triturus* eye cup appears smaller than the indices of the two control species.

8. If a lens is not induced, a Wolffian lens may develop in *Bombina* hosts with a *Triturus* eye cup. In complete chimeric eyes the regeneration of a Wolffian lens is suppressed by the *Bombina* lens.

9. Owing to the primary incompatibility eye cups transplanted from *Triturus* to *Hyla* and *Rana* as well as lens epidermis transplanted from *Triturus* to *Rana* are expelled. As a reaction of the secondary incompatibility *Bombina* eye cups in *Triturus* hosts start to degenerate on the 11th day after transplantation. The degeneration of eye cups from *Hyla* and *Rana* donors begins even earlier. If the tapetum nigrum is fully differentiated, the implant may remain longer.

Zusammenfassung. 1. Zur Beurteilung von Augenchimären wurde eine Normentafel über die Entwicklung der Augen von *Bombina variegata*, *Hyla arborea* und *Triturus alpestris* vom 2. bis zum 9. Tag nach Neurulation zusammengestellt.

2. Nach Transplantation der Augenbecheranlage entstanden 4 Typen von Chimärenaugen: Typ I, arteigener Spenderaugenbecher mit Wirtslinse. Typ II, Wirtslinse über Chimärenaugenbecher, der aus Spender- und Wirtsmaterial morphologisch und histologisch

* Dissertation an der Universität Zürich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. P. S. CHEN.

** Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. P. S. CHEN, danke ich herzlich für die Anregung und Leitung dieser Arbeit und für die Überlassung einer Anzahl transplantierte Keime.

harmonisch zusammengesetzt ist. Typ III, Spender- und Wirtsaugenbecheranteile ganz von ihren Pigmentepithelien umgeben, zusammen einen morphologisch harmonischen Chimärenaugenbecher mit Wirtslinse bildend. Typ IV, Chimärenauge des Typs I neben einem verkleinerten Wirtsauge.

3. Die histologische Differenzierung des Augenbechers verläuft im Chimärenauge autonom.

4. Bei fehlender Linse verzögert sich die Differenzierung des Augenbechers.

5. Im chimärisch zusammengesetzten Auge differenziert sich die Wirtslinse von *Triturus* normal, jene von *Bombina* leicht verzögert.

6. Nach Transplantation der Linsenanlage entstehen häufig mehrere Spender- und Wirtslinsen, was auf autonome Reaktion der artfremden Epidermen zurückgeführt werden kann. Chimärische Linsen oder einzelne Spenderlinsen treten selten auf.

7. Die Linsengröße im Chimärentyp I wird bestimmt durch die Größe und die Induktionskapazität des Augenbechers, die Dauer des Induktionskontaktes und die arttypische Größe des abgeschnürten Linsenbläschens. Das Linsenwachstum wird auf das arttypische Maß des Augenbechers beschränkt. Der Linsenindex der Augenchimären mit *Bombina*becher wird deshalb größer, derjenige von solchen mit *Triturus*becher kleiner als bei artreinen Kontrollaugen.

8. Eine Wolffsche Linse kann sich in der linsenlosen *Bombina*chimäre mit *Triturus*augenbecher sehr früh bilden. Im vollständigen Chimärenauge wird Wolffsche Linsenregeneration durch die *Bombinalinse* verhindert.

9. Augenbechertransplantate von *Triturus* in *Hyla* und *Rana* sowie Linsenektodermtransplantate von *Triturus* in *Rana* werden in primärer Unverträglichkeit ausgestoßen. In sekundärer Unverträglichkeit tritt im *Triturus*wirt die Degeneration des Augenbechers von *Bombina* vom 11. Tag an ein, von *Hyla* und *Rana* schon früher. Bei vollständiger Bildung des Pigmentepithels kann das Implantat länger erhalten bleiben.

Einleitung

Das Wirbeltierauge ist ein eindruckliches Beispiel für das Prinzip der kombinativen Einheitsleistung, bei der mehrere morphogenetische Faktoren zur Bildung eines normalgestalteten, funktionstüchtigen Organs beitragen (LEHMANN, 1933). Mit den speziellen Problemen der Determination der Augenbecheranlage, der Induktion der Linse und der korrelativen Beziehungen beim Größenwachstum der Augenteile befaßten sich seit SPEMANN (1901) und HERBST (1901) zahlreiche Autoren. Ihre Ergebnisse wurden von MANGOLD (1931, 1961), SPEMANN (1936), LOPASHOV und STROEVA (1961) und LOPASHOV (1963) zusammengefaßt.

Die vorliegende Untersuchung soll Auskunft geben über die gegenseitige Abhängigkeit der Linsen- und Augenbecherentwicklung in der xenoplastischen Augenchimäre von *Triturus alpestris* und *Bombina variegata* bzw. *Hyla arborea* oder *Rana temporaria*. Wie die eingehenden Studien von BALTZER und seinen Mitarbeitern zeigten, eignet sich die xenoplastische Transplantation insbesondere für eine experimentelle Prüfung des Homologieproblems (s. BALTZER, 1950, 1952). Wir fragen uns, ob sich das präsumptive Augenmaterial der hier verwendeten Amphibienarten gegenseitig vertreten kann. Wie steht es mit der morphologischen Gestaltung des xenoplastisch zusammengesetzten Auges? Inwiefern ist die Bildung einer harmonischen Augenchimäre vom Determinationszustand des Anlagematerials z. Z. der Transplantation abhängig? Verhalten sich die Differenzierung und das Wachstum von Retina und Linse autonom, oder werden sie von der artfremden Umgebung beeinflusst? Ferner soll abgeklärt werden, wie sich die Unverträglichkeit des ordnungsfremden Gewebes auf die Augenbildung auswirkt.

Frühere Arbeiten von ECKMANN (1914), MANGOLD (1931) und HOLTFFRETER (1939) haben gezeigt, daß die Linseninduktion bei Amphibien artspezifische Unterschiede aufweist. Während die Linse bei *Rana sylvatica*, *Pleurodeles Waltlii*, *Bufo*, *Triturus* und *Hyla* stets vom Augenbecher induziert wird, besteht bei *Rana esculenta* keine Abhängigkeit zwischen den beiden Anlagen. In Abwesenheit des Augenbeckers bilden sich bei *Bombina variegata*, *Rana palustris*, *Rana temporaria* und *Amblystoma punctatum* sog. Lentoide. Deshalb wurde von MANGOLD (1931) und HOLTFFRETER (1935a, b) neben dem Augenbecher das Urdarmdach als weiterer, schon während der Neurulation wirksamer Linseninduktor vermutet. Erst die Explantationsversuche von LIEDKE (1951, 1955), JACOBSON (1958) und MANGOLD (1961) konnten den direkten Beweis dafür liefern. Neuere Untersuchungen zeigten, daß auch das seitliche Herzmesoderm als schwacher Linseninduktor wirkt und daß nicht nur Anzahl und Art der Induktoren, sondern auch die Dauer ihrer Einwirkung bei der Determination der Linsenanlage eine wesentliche Rolle spielen (JACOBSON, 1966). Auf Grund dieser Kenntnisse stellen wir uns die Frage, wie die Induktion und die Determination der Linse im xenoplastisch zusammengesetzten Auge erfolgt. Welche Faktoren spielen bei der „ordnungs-fremden“ Induktion eine besondere Rolle?

Wie Exstirpationsversuche von LEWIS (1907) und SPEMANN (1912) zeigten, hängt die Linsengröße weitgehend von der Größe des Augenbeckers ab. Umgekehrt beeinflußt in späteren Larvenstadien das Linsenwachstum jenes des Augenbeckers (HARRISON, 1925, 1929). Daß die Größe der Linse auch durch inhärente Faktoren mitbestimmt wird, konnte ROTMANN (1939, 1942) für Urodelen, BALINSKY (1951, 1957) für Anuren in Exstirpations- und Transplantationsversuchen feststellen. In der vorliegenden Arbeit fragen wir uns, wie die Massenverhältnisse im chimärisch zusammengesetzten Amphibienauge bestimmt werden, wenn Augenbecher und Linse zwei verschiedenen Ordnungen entstammen.

Material und Methode

Die Versuche wurden mit *Triturus alpestris* als Vertreter der Urodelen und *Bombina variegata* als Anurenpartner ausgeführt. In drei Versuchsserien wurde letztere durch *Hyla arborea*, in wenigen Einzelfällen durch *Rana temporaria* ersetzt. Die adulten Tiere wurden während der Monate April bis Juni eingesammelt, im Labor in Zuchttrögen gehalten und zur Eiablage gebracht. Die *Trituruseier* wurden täglich von den als Wasserpflanzenersatz gegebenen Plastikstreifen abgelesen und in Halbrundschalen zwischen 14 und 18° C bis zum Operationsstadium aufgezogen. Die Unken (*Bombina*) wurden paarweise gehalten und durch Injektion von 400 Einheiten gonadotropen Hormons pro Weibchen zur Eiablage veranlaßt. Die *Hyla*- und *Ranaeier* stammten von natürlichen Laichplätzen. Die *Anureneier* wurden während der ersten Furchungsteilungen in einer schwach konzentrierten Nilblausulfatlösung gehalten, was eine regelmäßige Blaufärbung der Keime zur Folge hatte.

Die Operationen wurden mit einer modifizierten Technik nach SPEMANN (1906) ausgeführt. Die enthüllten Eier wurden serienweise meist im Neurula-, wenige schon im Gastrulastadium operiert. Die Operationen und die spätere Aufzucht erfolgten in Holtfreterlösung. Diese wurde alle 2 Tage ersetzt. Während der Gastrulation wurde das Aufzuchtmedium mit zwei Teilen Wasser verdünnt. Zur Verminderung der Infektionsgefahr wurde vor der Operation 0,2% Elkosin beigemischt. Unmittelbar nach der Transplantation und später täglich wurden dem Zuchtmedium ca. 500—1000 IE Penicillin pro Schale beigegeben. Die operierten Tiere wurden während 5—13 Tagen bei 18° C aufgezogen. Zum Zeichnen und zum Fixieren in Zenkerscher Flüssigkeit wurden sie mit 0,2% iger wäßriger MS 222-Lösung (Sandoz AG, Basel) betäubt.

Tabelle 1. Normalentwicklung von Augenbecher und Linse bei *Bombina variegata*, *Hyla arborea* und *Triturus alpestris*, aufgezogen bei 18° C. PM = Pollister- und Moore-Stadium, H = Harrison-Stadium, d = Tage nach Neurulation

d	<i>Bombina variegata</i>	<i>Hyla arborea</i>	<i>Triturus alpestris</i>
2	Abb. 1a. PM 17—18 Ausgestülpte Augenblase wird dicker. Präsumptives Tapetum nigrum knickt am Rande um und legt sich der Retina an. Linsenanlage undifferenziert	Abb. 1f. PM 18—19 Augenbecher eingesunken. Tapetum nigrum der Retina anliegend. Kernvermehrung des präsumptiven Linsenmaterials	Abb. 1l. H 23—29 Augenblase ausgestülpt. Linsenanlage undifferenziert
3	Abb. 1b. PM 19 Augenbecher beginnt einzusinken. Erste Einlagerung von Pigment ins Tapetum nigrum. Kernvermehrung und Linsenplakodenbildung	Abb. 1g. PM 19—20 Starkes Wachstum der Retina. Erste Einlagerung von Pigment ins Tapetum nigrum. Linsenplakode hebt sich von der Epidermis ab	Abb. 1m. H 30—32 Präsumptives Tapetum nigrum knickt am Rande um und legt sich der verdickten Retina an. Linsenanlage undifferenziert
4	Abb. 1c. PM 20 Retinakerne in reger mitotischer Teilung. Tapetum nigrum mit deutlicher Pigmenteinlagerung. Linsenbläschen abgeschnürt	Abb. 1h. PM 20 + Retinakerne in reger mitotischer Teilung. Tapetum nigrum mit deutlicher Pigmenteinlagerung. Linsenbläschen abgeschnürt	Abb. 1n. H 33—35 Augenbecher beginnt einzusinken. Erste Einlagerung von Pigment ins Tapetum nigrum. Linsenplakode beginnt sich von der Epidermis abzuheben
5	Abb. 1d. PM 21 Retina zentral fünfschichtig, äußere retikuläre Schicht undeutlich. Nervus opticus in Bildung. Faserkegel füllt Linsenepithel fast aus	Abb. 1i. PM 21 Retinakerne in reger mitotischer Teilung. Faserkegel füllt das breite Linsenepithel zur Hälfte aus	Abb. 1o. H 36 Retinakerne in reger mitotischer Teilung. Linsenbläschen in Abschnürung begriffen
6	Abb. 1e. PM 22 Retina differenziert, Sinneszellen einschichtig, schwach differenziert. Faserkegel mit langgezogenen Kernen füllt das Linsenepithel aus	Abb. 1k. PM 22 Retina fünfschichtig, Ganglien- und schwach differenzierte Sinnesschicht mit mehreren Kernlagen. Faserkegel mit langgezogenen Kernen füllt das Linsenepithel aus	Abb. 1p. H 37 Retinakerne in reger mitotischer Teilung. Tapetum nigrum deutlich pigmentiert. Linsenbläschen dickwandig mit kleinem Faserkegel
7	Abb. 2a. PM 23 Augenbecher rundlich, klein. Ganglienschicht mit mehreren Kernlagen. Faserkerne der Linse teilweise aufgehell	Abb. 2d. PM 23 Augenbecher rund, groß. Sinnesschicht ausdifferenziert mit zwei Kernlagen. Faserkerne der Linse stark aufgehell	Abb. 2g. H 38 Retina fünfschichtig, Sinnesschicht mit einer, Ganglienschicht mit mehreren Kernlagen. Faserkegel mit tropfenförmigen Kernen füllt Linsenepithel fast aus

Tabelle 1 (Fortsetzung)

d	<i>Bombina variegata</i>	<i>Hyla arborea</i>	<i>Triturus alpestris</i>
8	Abb. 2b. PM 24 Augenbecher elliptisch. Retina breit. Faserkerne der Linse schwach erkennbar	Abb. 2e. PM 24 Iris in Bildung begriffen. Sinnes- und Ganglien- schicht mit einer Kernlage. Linse stark faserig. Kerne im Zentrum nicht einzeln erkennbar	Abb. 2h. H 39 Innere und äußere reti- kuläre Schicht deutlich. Faserkegel mit lang- gezogenen, aufgehellten Kernen füllt das Linsen- epithel aus
9	Abb. 2c. PM 25 Iris in Bildung begriffen. Hintere Augenkammer klein. Faserkerne der Linse proximal schwach erkennbar	Abb. 2f. PM 25 Irisrand gebildet. Hintere Augenkammer groß. Linse faserig, ohne erkennbare Kerne	Abb. 2i. H 40 Retina im zentralen Teil flach. Sinneszellen be- ginnen sich zu differen- zieren. Ganglienschicht mit mehreren Kern- lagen. Hintere Augen- kammer klein. Linse groß, mit undeut- lichen Faserkernen

Die histologische Auswertung erfolgte an 10 μ dicken Paraffinschnitten, die mit Hämalaun-Eosin nach ROMEIS (1948) gefärbt wurden.

Die Größenverhältnisse bei den Augenchimären, deren Linse nicht von der gleichen Art wie der Augenbecher stammte, wurden bestimmt, indem ein Linsen-Augenbecherindex nach der Formel $\text{Volumen-Index} = \frac{\text{Linsenvolumen}}{\text{Augenbechervolumen}}$ berechnet wurde. Die so erhaltenen Indices ermöglichen den Vergleich mit den artreinen Kontrollaugen des Wirts und des Spenders.

Die Volumina wurden berechnet, indem jeweils die Fläche sämtlicher Schnitte durch einen Augenbecher oder eine Linse anhand eines feinmaschigen Netzkulares ausgemessen wurde. Die so erhaltene Maschenzahl, welche in der vorliegenden Arbeit zur Größenangabe verwendet wird, ergab bei einer Schnittdicke von 0,01 mm und bei einer Dichte von 2000 Maschen pro mm² Objektfläche das 20000fache Objektvolumen in mm³. Die Kontrolle der Meßgenauigkeit ergab bei drei Auszählungen desselben Objekts eine Streuung von $\pm 1,4\%$. Bei den Indices ist somit ein mittlerer Fehler von $\pm 2,8\%$ zu erwarten.

Die Zusammensetzung der chimärischen Augenbecher aus Spender- und Wirtsmaterial variiert so stark, daß diese nicht als einheitliche Beeinflussungspartner der Linse gewertet werden können. Wir begnügen uns deshalb für den approximativen Vergleich der Chimärenaugen der Typen II und III mit dem einfacheren

$$\text{Querschnitts-Index} = \frac{\text{mittlerer Linsenquerschnitt}}{\text{zugehöriger Augenbecherquerschnitt}}$$

Die folgenden Beispiele zeigen die verwendeten Indexbezeichnungen:

C.V.I. (b/t) = Chimären-Volumen-Index	$\frac{\text{Bombinalinse}}{\text{Triturusaugenbecher}}$
S.K.V.I. (t/t) = Spender-Kontroll-Volumen-Index	$\frac{\text{Trituruslinse}}{\text{Triturusaugenbecher}}$
W.K.V.I. (b/b) = Wirts-Kontroll-Volumen-Index	$\frac{\text{Bombinalinse}}{\text{Bombinaaugenbecher}}$
C.Q.I. (t/tb) = Chimären-Querschnitts-Index	$\frac{\text{Trituruslinse}}{\text{Chimärenaugenbecher}}$

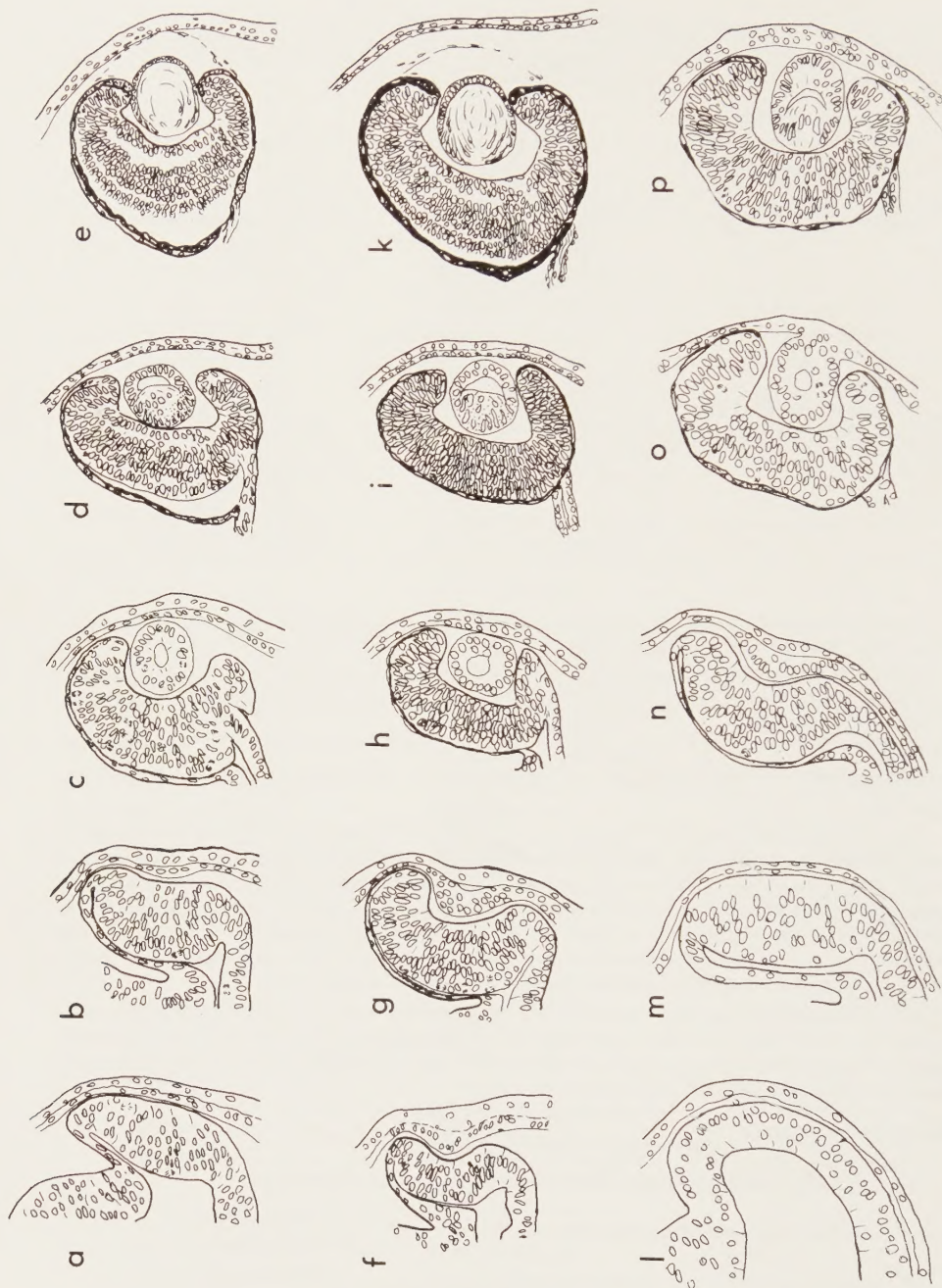


Abb. 1a—p. Normalentwicklung des Auges von *Bombina variegata* (a—e), *Hyla arborea* (f—k) und *Triturus alpestris* (l—p). Beschreibung in Tabelle I. Vergr. 60 ×

Normalentwicklung

Um bei der Besprechung der Transplantationsergebnisse zwischen den drei hauptsächlich verwendeten Arten *Triturus alpestris*, *Bombina variegata* und *Hyla arborea* eine Vergleichsbasis zu haben, soll vorerst ihre Normalentwicklung kurz erläutert werden (vgl. auch CHEN und

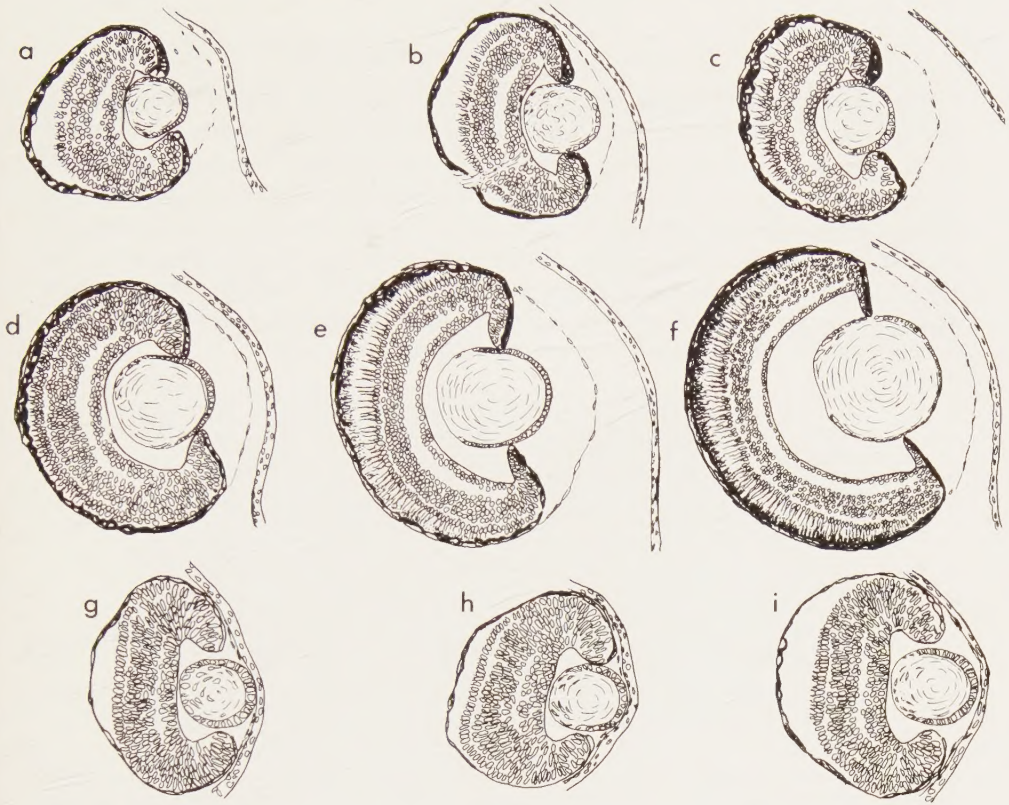


Abb. 2a—i. Normalentwicklung des Auges von *Bombina variegata* (a—c), *Hyla arborea* (d—f) und *Triturus alpestris* (g—i). Beschreibung in Tabelle 1. Vergr. 50 ×

FISCHER, 1964). Tabelle 1 und Abb. 1 und 2 zeigen die Augenentwicklung dieser Arten zwischen 2. und 9. Tag nach Neurulation. Die Urodelenstadien wurden nach HARRISON, die Anurenstadien nach POLLISTER und MOORE bezeichnet (s. RUGH, 1941).

Die Embryonalentwicklung verläuft bei den Anuren vor und nach Neurulation bedeutend schneller als bei den Urodelen. Die Ausstülpung der Augenblase erfolgt bei allen 3 Arten am 1. Tag nach Neurulation. Die Verdickung und das Einsinken der Retina tritt bei *Hyla* zwischen dem 1. und 2. Tag ein, im Laufe des 2. und 3. bei *Bombina* und erst zwischen 3. und 4. bei *Triturus*. Die Pigmentbildung im *Tapetum nigrum* beginnt bei den beiden Anurenarten am 3., bei *Triturus* am 4. Tag. Die 5 Schichten der Retina sind bei *Bombina* am 5., bei *Hyla* am 6., bei *Triturus* erst vom 7. Tag an deutlich zu unterscheiden. Die Differenzierung der Sinneszellen beginnt bei *Bombina* am 6., bei *Hyla* am 7., bei *Triturus* am 9. Tag.

Die Entwicklung der Linse verläuft bei den 3 Arten fast synchron. Die Verzögerung bei *Triturus* beträgt knapp 1 Tag. 3 Tage nach Neurulation wird bei den Anuren die Linsenplakode abgehoben, und das Linsenbläschen schnürt sich am 4. Tag ab. Im Laufe der beiden folgenden Tage entwickelt sich der Faserkegel, dessen Kerne sich zwischen dem 7. und 8. Tag aufzuhellen beginnen.

Die Embryonalentwicklung des Auges ist bei *Bombina* am 6., bei *Hyla* am 7., bei *Triturus* am 10. Tag abgeschlossen. *Triturus* wächst bis zu diesem Zeitpunkt langsamer als *Hyla*, aber schneller als *Bombina*, welche auch später zurückbleibt.

Ergebnisse

Transplantation der Augenbecheranlage

Die Augenbecheranlagen von *Bombina* und *Triturus* wurden im Neurulastadium reziprok orthotop transplantiert. Sie liegen in diesem Stadium im vorderen Drittel der Neuralplatte, beidseits der Medianlinie direkt innerhalb des Neuralwulstes. Abb. 3 gibt das Operationsschema wieder. Um möglichst die ganze Anlage vertauschen zu können, mußte das Transplantat eher zu groß gewählt werden. So wurde meist etwas Neuralleistenmaterial mittransplantiert, was später anhand der Hautpigmentierung festgestellt werden konnte. Einige Transplantationen im Gastrulastadium ergaben keine wesentlich anderen Resultate, weshalb sie im folgenden nicht gesondert behandelt werden.

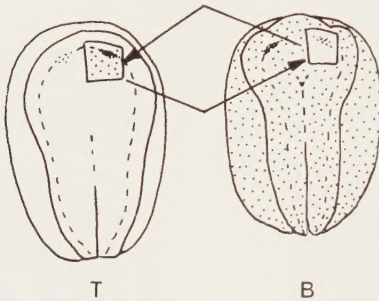


Abb. 3

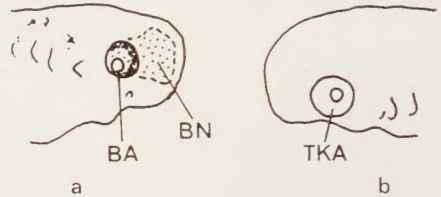


Abb. 4

Abb. 3. Operationsschema: Präsumptives Augenbechermaterial wurde im Neurulastadium zwischen *Triturus alpestris* (T) und *Bombina variegata* (B) bzw. *Hyla arborea* orthotop reziprok transplantiert

Abb. 4a u. b. Fall 67/3. Wirt: *Triturus*, Spender: *Bombina*. *Triturus*keim mit *Bombina*augenbecher 5 Tage nach der Operation gezeichnet. a Das vitalblau markierte Implantat hat einen Teil des Telencephalons (BN) und den dunkel pigmentierten *Bombina*augenbecher (BA) gebildet. b Das Kontrollauge von *Triturus* (TKA) ist noch unpigmentiert.

Vergr. 21 ×

Die auf Grund dieser Operationen erzielten Ergebnisse lassen sich in 4 Gruppen zusammenfassen, welche durch die Art des Spenderanteils am Chimärenauge charakterisiert sind.

Typ I: Artreiner Spenderaugenbecher mit Wirtslinse.

Typ II: Aus Spender- und Wirtsmaterial morphologisch und histologisch harmonisch zusammengesetzter Augenbecher mit Wirtslinse.

Typ III: Aus Spender- und Wirtsmaterial morphologisch harmonisch zusammengesetzter Augenbecher mit Wirtslinse. Die Augenbecheranteile werden durch Tapetum voneinander getrennt.

Typ IV: Oft linsenloses Chimärenauge des Typs I neben einem verkleinerten Wirtsauge.

Anhand von Beispielen sollen die 4 Chimärentypen besprochen werden.

1. Typ I

a) Anurenaugenbecher im *Triturus*wirt

Fall 67/3. Xenoplastische Transplantation der Augenbecheranlage. Wirt: *Triturus alpestris* (H 14+ = Harrison-Stadium), Spender: *Bombina variegata* (PM 12+ = Pollister- und Moore-Stadium). Fixierung nach 7 Tagen.

Die chimärische *Triturus*larve entwickelte sich normal und ließ früh einen größeren *Bombinavorderhirn*anteil mit leicht nach ventral geneigtem Implantatsaugenbecher erkennen (Abb. 4). Nach dem histologischen Befund liegt der Spenderaugenbecher etwa auf der Höhe des Kontrollauges, seine Retina ist etwas geneigt und geht ventral direkt in den Augenstiel über (Abb. 5). Die innere retikuläre Schicht ist deutlich, die äußere schwach zu erkennen, die Sinneszellen

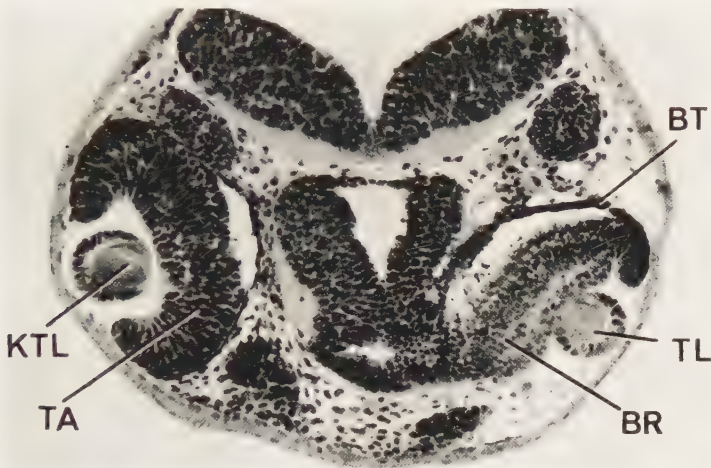


Abb. 5. Fall 67/3. Wirt: *Triturus*, Spender: *Bombina*. Querschnitt durch die Augenregion einer Chimäre vom Typ I. Die weiter entwickelte *Bombinaretina* (BR) geht im oberen Teil in *Bombinatapetum* (BT) über. Die *Trituruslinse* (TL) über dem *Bombinaaugenbecher* ist etwas kleiner als die Kontrolllinse (KTL) über dem Wirtsaugenbecher (TA). Vergr. 95×

sind noch wenig differenziert. Das Tapetum wird nur in seinem dorsalen Teil vom stark pigmentierten *Bombinamaterial* gebildet. Gegen den Augenstiel geht es in kaum pigmentiertes Wirtsmaterial über.

Beim Kontrollaugenbecher des *Triturus*wirts ist die innere retikuläre Schicht der Retina erst andeutungsweise zu erkennen. Sein Tapetum ist nur schwach pigmentiert. Vergleiche mit den gleichaltrigen Augenbechern der Normalentwicklung (Tabelle 1, Abb. 2a, g) und des Spenders zeigen, daß sich der transplantierte Augenbecher autonom entwickelt hat. Er ist mit seinem Volumen 1193 (s. S. 85) etwas kleiner als der Spenderkontrollaugenbecher (1259) und mißt kaum die Hälfte des Wirtskontrollaugenbeckers (2426). Das Wirtsmilieu hat also auf das Augenbecherwachstum keinen akzelerierenden Einfluß ausgeübt.

Die Linsen beider Augen bestehen aus *Triturus*material und sind gleich weit differenziert. Diejenige des Chimärenauges (109) ist kleiner als jene des Wirtskontrollauges (160), jedoch etwas größer als jene des Spenderkontrollauges (102).

Tabelle 2. Größenbeziehungen bei Kontroll- und Chimärenaugen von *Bombina variegata* und *Triturus alpestris* zwischen dem 5. und dem 13. Entwicklungstag nach der Neurulation

Art	Anzahl Fälle	Linsengröße	Augenbechergröße	Augenindex	Gleichung der Regressionsgeraden	Korrelationskoeffizient (r)
<i>Triturus alpestris</i> -Kontrollen	20	$241,5 \pm 89,3$	2996 ± 1189	$0,083 \pm 0,017$	TL = $0,067$ TA + $41,4$	0,908
<i>Bombina variegata</i> -Kontrollen	19	$156,6 \pm 71,2$	1766 ± 640	$0,087 \pm 0,014$	BL = $0,107$ BA - $32,6$	0,957
<i>Triturus</i> linse/ <i>Bombina</i> - augenbecher- Chimären	20	$154,0 \pm 70,8$	1322 ± 544	$0,121 \pm 0,041$	TL = $0,098$ BA + $25,3$	0,752

TL = *Triturus*linse, TA = *Triturus*augenbecher, BL = *Bombina*linse, BA = *Bombina*augenbecher.

Der C.V.I. (t/b) = 0,091 des Chimärenauges übertrifft somit den W.K.V.I. (t/t) = 0,066 des *Triturus*auges sowie den S.K.V.I. (b/b) = 0,081 des *Bombina*auges. Die Linse des Chimärenauges ist größer als bei wirts- oder spendergemäßer Korrelation zu erwarten wäre.

In allen 24 Fällen von Chimärentyp I mit *Bombina*augenbecher differenzieren sich Spenderaugenbecher und Wirtslinse autonom. Die Linsengröße wird jedoch vom artfremden Augenbecher beeinflusst. Um diese Größenbeziehung beurteilen zu können, müssen wir vorerst auf die Volumina der normalentwickelten Augenteile eingehen. Die Kontrollwerte, die in Tabelle 2 zusammengestellt sind, stammen jeweils von den nicht transplantierten Augen des Wirts (*Triturus*) bzw. Spenders (*Bombina*).

Alle ausgewerteten Keime wurden 5—13 Tage nach der Operation fixiert und wiesen noch beträchtliche Dottervorräte auf, so daß der Ernährungsfaktor (HARRISON, 1929) auf unsere Resultate keinen Einfluß haben sollte.

Zur Beurteilung der Größenverhältnisse wurden in der graphischen Darstellung auf der Abszisse die Volumenwerte der Augenbecher, auf der Ordinate jene der Linsen eingetragen. Die Regressionsgeraden letzterer wurden in Abhängigkeit der Augenbechergröße nach v. D. WAERDEN (1965, S. 141 ff.) berechnet und eingezeichnet (Abb. 6). Sie wurden nur soweit gezogen, als Fälle vorhanden sind. Abb. 6a—c zeigen, daß die beiden Variablen, Linse und Augenbecher, gut korrelieren. Die Korrelationskoeffizienten (Idealfall $r=1$) liegen wie erwartet bei den beiden Kontrollgruppen etwas höher als bei den Chimären (Tabelle 2, Spalte 7). Auf Grund dieser Unterlagen ergeben sich folgende Feststellungen:

1. Der Mittelwert der Augenbechervolumina von *Bombina* liegt tiefer als derjenige von *Triturus* (Tabelle 2, Spalte 4). Die Volumenzunahme ist im Bereich unserer Fälle bei *Bombina* bedeutend kleiner als bei *Triturus* (Abb. 6a, b).

2. Der Mittelwert der Linsenvolumina von *Bombina* liegt wesentlich tiefer als derjenige von *Triturus* (Tabelle 2, Spalte 3). Die Volumenzunahme ist im Bereich unserer Fälle bei *Bombina* geringer als bei *Triturus* (Abb. 6a, b).

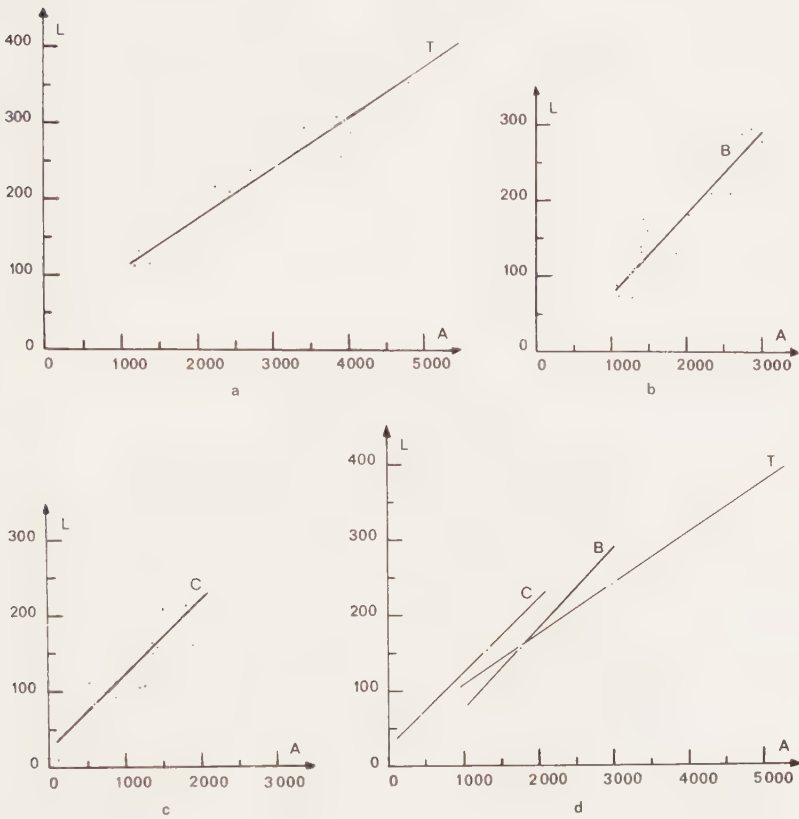


Abb. 6a—d. Abhängigkeit der Linsengröße (L) von der Augenbechergröße (A). Werte und Regressionsgerade: a von *Triturus alpestris* (T), b von *Bombina variegata* (B), c des Chimären-
auges (C) mit *Triturus*linse und *Bombina*augenbecher. d Zusammenstellung der drei
Regressionsgeraden mit eingezeichneten Mittelwerten

3. Die relative Volumenzunahme der Linse im Vergleich zum Augenbecher ist bei *Bombina* größer als bei *Triturus*. Dies drückt sich in den Steigungen der Regressionsgeraden aus (Tabelle 2, Spalte 6, Abb. 6d).

4. Der Augenindex gibt uns ein Maß für das Größenverhältnis zwischen Linse und Augenbecher. Er ist für *Triturus* nur wenig und statistisch nicht gesichert kleiner als für *Bombina* (Tabelle 2, Spalte 5).

Die entsprechenden Angaben für die chimärisch zusammengesetzten Augen aus *Triturus*linse und *Bombina*augenbecher sind ebenfalls der Tabelle 2 und Abb. 6c, d zu entnehmen. Sie sollen im folgenden besprochen werden. 4 chimärische Fälle, bei denen die ungünstige Lage des Augenbeckers zur Epidermis eine normale Induktion nicht erwarten läßt, wurden nicht berücksichtigt.

ad 1. Das mittlere Volumen der *Bombina*augenbecher im chimärisch zusammengesetzten Auge erreicht weder die *Triturus*- noch die *Bombina*kontrollgröße, die bei autonomer Entwicklung zu erwarten wäre (Tabelle 2, Spalte 4).

ad 2. Obwohl die *Triturus*linsen im chimärisch zusammengesetzten Auge über zu kleinen *Bombina*augenbechern liegen, ist ihr mittleres Volumen etwa gleich

groß wie das durchschnittliche Linsenvolumen der *Bombina*-Kontrollen. Es bleibt jedoch kleiner als jenes der *Triturus*-Kontrollen (Tabelle 2, Spalte 3).

ad 3. Die relative Volumenzunahme der Linse zum Augenbecher liegt beim chimärischen Auge zwischen den Werten der beiden Kontrollaugen. Die Steigung der Regressionsgeraden liegt jedoch wesentlich näher bei den *Bombina*-Kontrollen (Tabelle 2, Spalte 6, Abb. 6d). Das *Triturus*-Linsenwachstum im Chimärenauge wird offenbar bestimmt durch das Wachstum des *Bombina*-Augenbechers.

ad 4. Der Augenindex ist signifikant größer als die beiden Kontrollindices von *Bombina* und *Triturus* (Tabelle 2, Spalte 5). Das heißt, daß die Wirtslinse zu groß ist im Verhältnis zum Spenderaugenbecher. Weitere Faktoren müssen also die Linsengröße im Chimärenauge beeinflussen (s. S. 107f.).

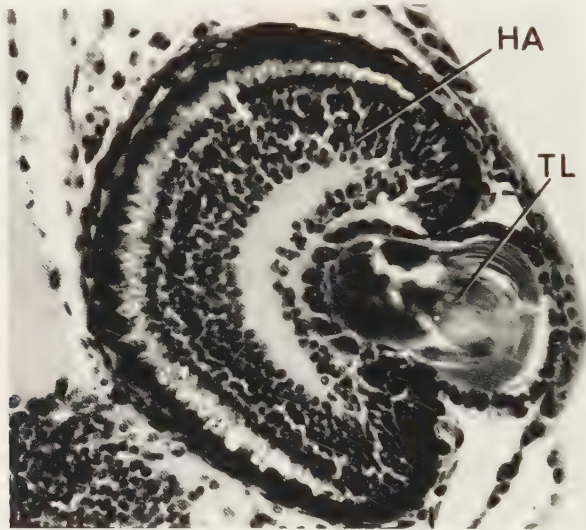


Abb. 7. Fall 4/21. Wirt: *Triturus*, Spender: *Hyla*. Der *Hyla*-Augenbecher (HA) hat eine große *Triturus*-Linse (TL) induziert, welche birnförmig zusammengedrückt wird. Vergr. 190×

Auf die Fälle des Chimärentyps I ohne Linse wird bei der Kombination von *Triturus*-Augenbechern in *Bombina*-Wirten eingegangen.

Abb. 7 zeigt einen *Triturus*-Keim, dessen Augenbecher auf der Operationsseite von *Hyla* stammt. Er bestätigt die Befunde aus der Kombination von *Triturus*-Linsen über *Bombina*-Augenbechern.

Die beiden *Triturus*-Keime mit *Rana*-Augenbechern weisen nur unvollständig differenzierte Lentoide auf.

b) *Triturus*-Augenbecher im Anurenwirt

Fall 67/4. Xenoplastische Transplantation der Augenbecheranlage. Wirt: *Bombina variegata* (PM 12+), Spender: *Triturus alpestris* (H 14+). Fixierung nach 7 Tagen.

Das *Triturus*-Implantat entwickelte sich zur rechten Vorderhirnhemisphäre, hinter welcher sich ein Spenderaugenbecher bildete (Abb. 8). Die histologische Untersuchung zeigt, daß dieser von arttypisch schwach pigmentiertem *Triturus*-tapetum umgeben ist (Abb. 9a). Seine Retina ist breit, läßt aber wie jene der

Spenderkontrolle noch keine deutliche Differenzierung erkennen. Dagegen zeigt die Kontrollretina des *Bombina*-Wirts schon die beiden retikulären Schichten (Abb. 9b). Das Implantat hat sich somit autonom entwickelt.

Der Spenderaugenbecher (1656) ist deutlich größer als der Wirtskontrollaugenbecher von *Bombina* (1259), erreicht jedoch keineswegs die Größe des

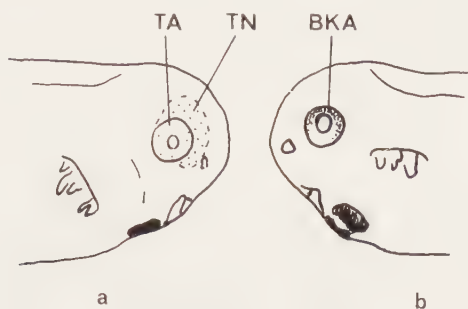


Abb. 8a u. b. Fall 67/4. Wirt: *Bombina*, Spender: *Triturus*. a *Bombina*-Chimäre mit *Triturus*-Implantat 5 Tage nach der Operation. TN *Triturus*-neuralmaterial, TA *Triturus*-augenbecher. b Kontrollseite: BKA *Bombina*-kontrollauge. Vergr. 21 $\times$

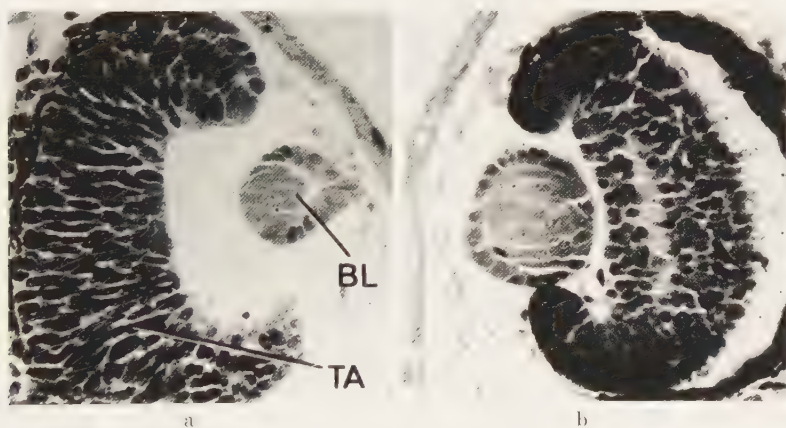


Abb. 9a u. b. Fall 67/4. Wirt: *Bombina*, Spender: *Triturus*. a Mittlerer Linsenschnitt (BL) des Chimärenauges mit wenig differenziertem Spenderaugenbecher (TA). b Querschnitt durch das weit differenzierte Wirtskontrollauge. Vergr. 190 $\times$

Spenderkontrollaugenbechers (2426). Die *Bombina*-Linse (37) des Chimärenauges ist weniger weit entwickelt und bedeutend kleiner als diejenige des Kontrollauges (102) und der Spenderkontrolle (160). Der C.V.I. (b/t) ist deshalb mit 0,022 sehr klein. Im Vergleich dazu beträgt der W.K.V.I. (b/b) = 0,081 und der S.K.V.I. (t/t) = 0,066.

Die weiteren 5 Fälle des Chimärentyps I mit implantiertem *Triturus*-augenbecher lassen beim Vergleich der histologischen Schnittbilder mit den gleichaltrigen Kontrollen der Normalentwicklung (Tabelle 1, Abb. 1, 2) eine weitgehend autonome Differenzierung der einzelnen Partnergewebe erkennen. Es

fällt jedoch auf, daß die transplantierten *Triturus*augenbecher kleiner sind als die gleichaltrigen Spenderkontrollen, aber größer als die Wirtskontrollen. Der durchschnittliche Index C.V.I. (b/t) = $0,028 \pm 0,027$ der chimärischen Augen ist bedeutend kleiner als jener der beiden Kontrollaugen W.K.V.I. (b/b) = $0,088 \pm 0,014$, S.K.V.I. (t/t) = $0,082 \pm 0,016$. Die Mittelwertsunterschiede sind nach dem Student-Test gesichert ($p < 0,05$) (s. v. D. WAERDEN, 1965, S. 116ff.).

Weder mit *Hyla* noch mit *Rana* als Wirt gelang es, ein Chimärenauge der Typen I—III zu erhalten, da die Transplantate vom Wirt ausgestoßen wurden.

Von 24 Fällen mit implantiertem *Triturus*augenbecher, die keine Wirtslinse gebildet hatten, zeigten 4 eine solche aus Spendermaterial. Diese Linsen sind aus

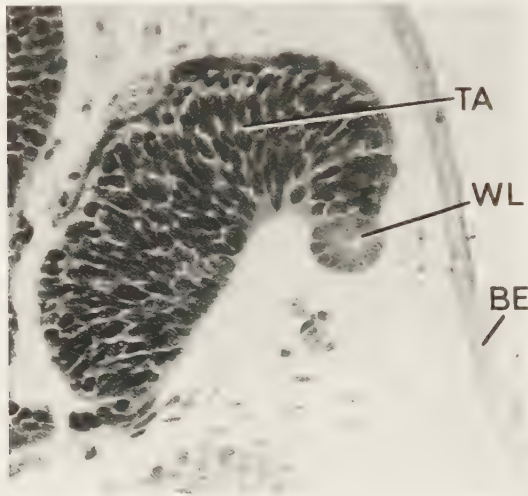


Abb. 10. Fall 67/6. Wirt: *Bombina*. Spender: *Triturus*. Der implantierte *Triturus*augenbecher (TA) hat keine Linse aus *Bombina*material induziert, sondern eine Wolffsche Linse (WL) aus *Triturus*material des Augenbecherrandes gebildet. BE *Bombina*epidermis. Vergr. 190 $\times$

dem oberen Irisrand des transplantierten Augenbechers entstanden. Nach Lage und Aufbau entsprechen sie den Wolffschen Linsen (s. SCHEIB, 1965 und S. 108 der vorliegenden Arbeit).

Fall 67/6. Xenoplastische Transplantation der Augenbecheranlage. Wirt: *Bombina variegata* (PM 12-). Spender: *Triturus alpestris* (H 14). Fixierung nach 7 Tagen.

Bei der Transplantation war der äußere Rand des Neuralwulstes unverletzt geblieben. Das Implantat bildet einen Augenbecher, der ventral gegen das Diencephalon geneigt ist (Abb. 10). Der Irisrand ist umgebogen, die schwach differenzierte Retina jedoch noch nicht deutlich abgegrenzt von der inneren Iriswand. Am Übergangspunkt vom Tapetum zur Retina hat sich eine kleine Linse gebildet, die eindeutig aus *Triturus*material besteht. Diese zeigt im Raume des Retinarandes Ansätze zur Kernverlängerung. Da gemäß Protokoll und nach genauer Kontrolle der Schnittbilder kein Hautektoderm von *Triturus* transplantiert wurde, handelt es sich nach Form und Lage um eine Wolffsche Linse, die aus Irisrandmaterial gebildet wurde.

In den 3 entsprechenden Fällen steht das Lentoid noch mit dem Irisrand in Verbindung. Es dürfte sich dabei um das früheste Auftreten Wolffscher Linsenregeneration handeln.

Bei den restlichen 20 *Bombina*keimen mit implantierter *Triturus*augenbecheranlage hatte sich weder eine Wirts- noch eine Spenderlinse gebildet. In 3 reziproken Fällen hatte die Transplantation des *Bombina*augenbechers ebenfalls zu linsenlosen Augen geführt. Die Spenderretinen differenzierten sich dabei meist unter Beibehaltung der artgemäßen Größe in beiden Partnerkombinationen langsamer als die Retinen der Spenderkontrollen (Abb. 11a, b). Die Linse übt demnach auf die Differenzierung des Augenbechers einen akzelerierenden Einfluß aus.

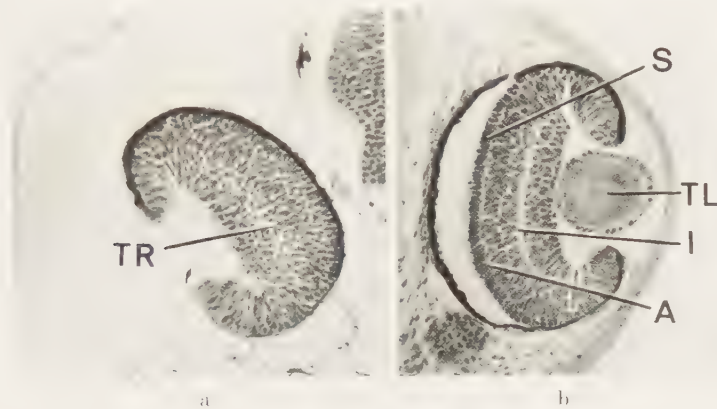


Abb. 11a u. b. Fall Cb/8. Wirt: *Bombina*, Spender: *Triturus*. a Der implantierte Spenderaugenbecher hat keine Linse induziert. Seine Retina (TR) ist noch wenig differenziert. b Der Spenderkontrollaugenbecher mit Linse (TL) ist bedeutend weiter differenziert. Innere retikuläre Schicht (I), äußere retikuläre Schicht (A) und Sinneszellen (S) sind hier deutlich zu erkennen. Vergr. 95 $\times$

2. Typen II—IV

Chimärische Augenbecher mit oder ohne Linse

Die Chimärentypen II—IV unterscheiden sich vom I. dadurch, daß sie außer dem Augenbechermaterial des Spenders auf der Operationsseite auch noch solches vom Wirt aufweisen. Nach dem Grad der Zusammenarbeit beider Teile können wir 3 Typen abgrenzen.

Beim Typ II gehen die Retinaanteile von Spender und Wirt harmonisch ineinander über und bilden einen normal geformten chimärischen Augenbecher (Abb. 12). Die Linsen der *Triturus*wirte sind über diesen im Durchschnitt 15% kleiner als über den Kontrollaugenbechern. Da die Chimärenaugenbecher jedoch 25% kleiner sind als die Wirtskontrollaugenbecher, ergibt sich ein Chimärenindex $C.Q.I. (t/bt) = 0,33 \pm 0,10$, der den Wirtskontrollindex $W.K.Q.I. (t/t) = 0,27 \pm 0,05$ deutlich übertrifft.

Im reziproken Fall mit *Bombina* als Wirt sind die Chimärenaugenbecher eher größer als die Wirtsaugenbecher. Die *Bombinalinsen* sind im Chimärenauge

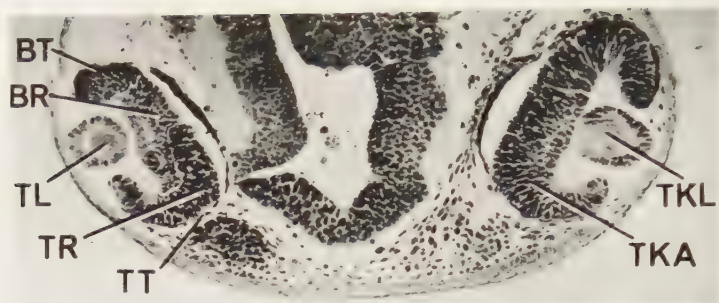


Abb. 12. Fall 68/11. Wirt: *Triturus*, Spender: *Bombina*. Der *Bombina*-anteil am harmonisch chimärischen Augenbecher des Typs II ist weiter entwickelt als der *Triturus*-anteil. *BR* Bombinaretina, *TR* Triturusretina, *BT* Bombinatapetum, *TT* Triturustapetum, *TKA* Trituruskontrollauge. Die *Triturus*-linse (*TL*) über dem Chimärenaugenbecher ist relativ größer als die *Trituruskontroll*linse (*TKL*) über dem *Trituruskontroll*augenbecher (*TKA*). Vergr. 75 >

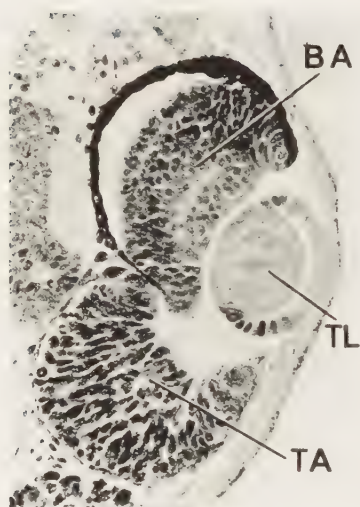


Abb. 13

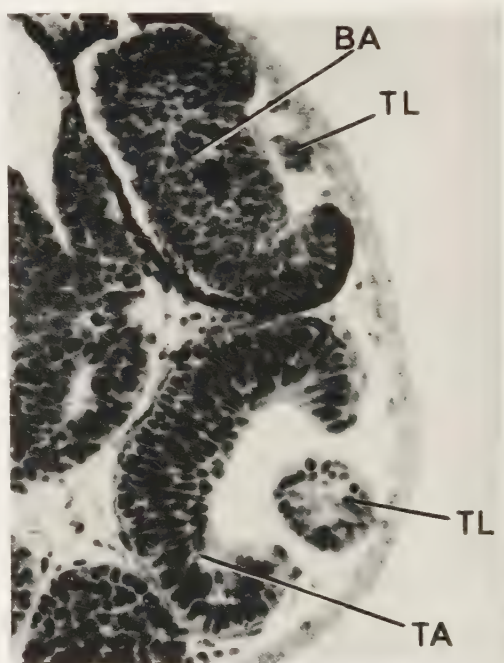


Abb. 14

Abb. 13. Fall 67/7. Wirt: *Triturus*, Spender: *Bombina*. Chimärenauge des Typs III. Das *Bombina*-implantat bildet mit der Wirtsanlage morphologisch einen Bulbus. *Triturus*-augenbecher (*TA*) und *Bombina*-augenbecher (*BA*) werden von ihren arteigenen Pigmentepithelien umfaßt und weisen eine gemeinsame Linse (*TL*) auf. Vergr. 150 >

Abb. 14. Fall 69 27. Wirt: *Triturus*, Spender: *Bombina*. Chimärentyp IV. Auf der gleichen Kopfseite wie das vollständige Wirtsauge (*TA*) hat sich ein Chimärenauge mit *Triturus*-linse (*TL*) und *Bombina*-augenbecher (*BA*) gebildet. Vergr. 150 >

weniger differenziert und werden nur etwa halb so groß wie jene über den Wirtsaugenbechern. Dadurch ergibt sich im Vergleich zu den *Bombinakontrollen* [W.K.Q.I. (b/b) = $0,29 \pm 0,05$] ein deutlich kleinerer Chimärenaugenindex [C.Q.I. (b/tb) = $0,15 \pm 0,07$].

Beim Typ III bilden Spender- und Wirtsmaterial je einen vollständigen Augenbecher mit Retina, Tapetum und Augensiel (Abb. 13). Die beiden Augenbecher formen zusammen einen Bulbus, in dessen vorderer Kammer die gemeinsame Wirtslinse liegt. Der Index der Chimärenaugen des Typs III in *Triturus*-wirten liegt zwischen den beiden Kontrollindices.

Die Linse über dem Chimärenauge des Typs III im *Bombinawirt* ist durchschnittlich gleichgroß wie die Kontrolllinse. Da auch hier der Chimärenaugenbecher größer ist als die *Bombinakontrolle*, wird der Chimärenindex kleiner als der Spender- und der Wirtskontrollindex.

Beim Typ IV bilden Spender- und Wirtsmaterial zwei unabhängige Augenbecher (Abb. 14). Diese induzieren im günstigsten Fall selbständig je eine Linse, welche allerdings über dem Spenderaugenbecher meist fehlt.

Tabelle 3 faßt die Resultate der Augenbecheranlagentransplantationen zusammen und zeigt folgendes: 1. In *Triturus*-wirten mit *Bombina*-augenbechern

Tabelle 3. Entwicklungsleistungen der Chimärenaugen nach Transplantation der Augenbecheranlage

Wirt	Spen- der	Chimä- rentyp	An- zahl mit Linse	An- zahl ohne Linse	Wirt	Spen- der	Chimä- rentyp	An- zahl mit Linse	An- zahl ohne Linse
Ta	Bv	I	24	3	Bv	Ta	I	6	24 ^a
Ta	Bv	II	23	—	Bv	Ta	II	6	—
Ta	Bv	III	23	—	Bv	Ta	III	9	—
Ta	Bv	IV	21 ^b	5	Bv	Ta	IV	35 ^c	8
Total			91	8	Total			56	32
Ta	Ha	I	2	—	Ha	Ta	I	Transplantate ausgestoßen	
Ta	Ha	II	2	—	Ha	Ta	II	Transplantate ausgestoßen	
Ta	Ha	III	2	—	Ha	Ta	III	Transplantate ausgestoßen	
Ta	Ha	IV	2 ^d	—	Ha	Ta	IV	Transplantate ausgestoßen	
Total			8	—					
Ta	Rt	I	2	—	Rt	Ta	I	—	—
Ta	Rt	IV	1	—	Rt	Ta	IV	1	—
Total			3	—	Total			1	—

Ta = *Triturus alpestris*; Bv = *Bombina variegata*; Ha = *Hyla arborea*; Rt = *Rana temporaria*.

^a Davon 4 mit Wolffscher Linsenregeneration.

^b Davon 18 mit Linse über dem Wirtsaugenbecher.

^c Davon 4 mit Linse nur über dem Spenderaugenbecher, 30 mit Linse nur über dem Wirtsaugenbecher.

^d Je 1 Fall mit Linse nur über dem Spender- bzw. nur über dem Wirtsaugenbecher.

wird im Gegensatz zur reziproken Kombination meist eine Linse gebildet (Typ I). In einigen *Bombina*-Wirten mit *Triturus*-Augenbechern wird an Stelle der fehlenden Wirtslinse eine Wolffsche Linse gebildet. 2. Chimärenaugenbecher aller Kombinationen induzieren eine Linse (Typ II, III). 3. Bei den Chimären des Typs IV findet sich häufig nur über dem Wirtsaugenbecher eine Linse. 4. *Hyla*- und *Rana*-Wirtse stoßen Augenbechertransplantate von *Triturus* kurz nach der Operation aus.

Transplantation der Linsenanlage

Im frühen Neurulastadium wurden die Linsenanlagen von *Triturus*- und *Bombina*-Keimen orthotop transplantiert. Sie liegen in diesem Stadium außerhalb des vorderen Neuralwulstbogens, bei Anuren weiter lateral als bei Urodelen,

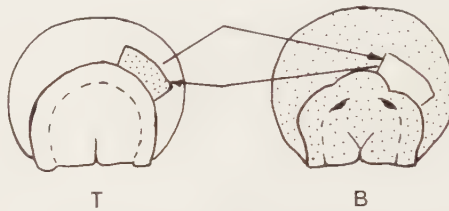


Abb. 15. Operationsschema: Präsumptives Linsenmaterial wurde im Neurulastadium zwischen *Triturus alpestris* (T) und *Bombina variegata* (B) reziprok orthotop transplantiert

können jedoch nicht ganz genau lokalisiert werden (vgl. v. WOELLWARTH, 1961). Das Transplantat durfte trotzdem nicht zu groß gewählt werden, weil eine übermäßige Defektsetzung den Wundverschluß stark beeinträchtigt hätte. Abb. 15 gibt das Operationsschema wieder. Die Transplantationen wurden teils reziprok, teils nur in einer Richtung, mit *Triturus* als Wirt und *Bombina* als Spender, durchgeführt. Die Fälle mit *Hyla* bzw. *Rana* als Wirt blieben erfolglos, da die Transplantate ausgestoßen wurden.

Die folgenden Ergebnisse der Versuche wurden z.T. in Tabelle 4 zusammengefaßt: 1. Nur in einzelnen Fällen gelang es, eine einzige Spenderlinse in normaler Lage zu erhalten. 2. *Triturus*-Linsen entstehen als zu kleine Spenderlinsen häufig neben dem Augenbecher. 3. Wo eine Spenderlinse gebildet wird, ist sie meist von einer vollständigen, verkleinerten Wirtslinse begleitet. 4. *Triturus*-Linsen treten auf der Operationsseite des *Triturus*-Wirts oft in der Mehrzahl und unabhängig vom Vorhandensein einer Spenderlinse auf. 5. Chimärische Linsen finden sich nur in Einzelfällen.

Anhand von Beispielen sollen diese Resultate charakterisiert werden.

Fall 22/7. Xenoplastische Transplantation der präsumptiven Kopfeperidermis. Wirt: *Triturus alpestris* (H 13+), Spender: *Bombina variegata* (PM 14). Fixierung nach 11 Tagen.

Das im Protokoll als zu dick bezeichnete Implantat lag genau über der Augenblase und dehnte sich im Laufe der Entwicklung über die ganze rechte Kopfseite der Larve aus (Abb. 16). Aus der histologischen Untersuchung ergibt sich, daß über dem normal differenzierten *Triturus*-Augenbecher eine *Bombinalinse* gebildet wurde, deren Differenzierungsgrad jenem der Kontrollinse entspricht (Abb. 17).



Abb. 16. Fall 22/7. Wirt: *Triturus*, Spender: *Bombina*. *Triturus*-Chimäre nach Transplantation der Linsenanlage. Das Implantat (BE) überdeckt die ganze rechte Kopfseite und hat über dem *Triturus*-Augenbecher (TA) eine kleine *Bombinalinse* (BL) gebildet. Vergr. 31 >

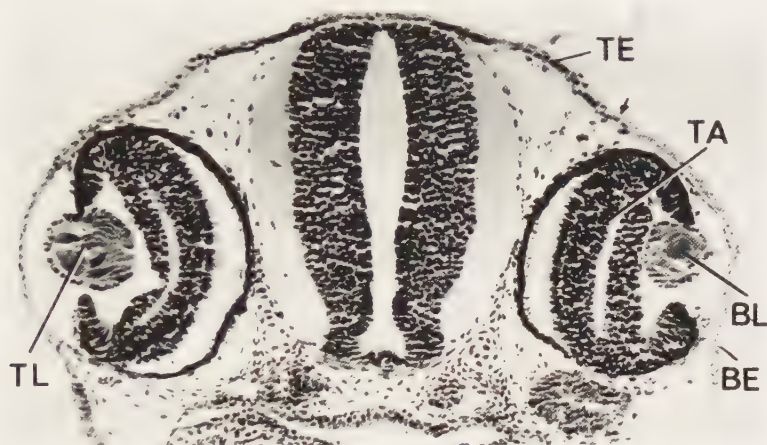


Abb. 17. Fall 22/7. Wirt: *Triturus*, Spender: *Bombina*. Chimärentyp I. Nach Transplantation von *Bombina*-Hautektoderm (BE) hat sich eine *Bombinalinse* (BL) über dem Wirtsaugenbecher von *Triturus* (TA) gebildet, die im Vergleich zur Kontrollinse (TL) viel zu klein ist. TE *Triturusektoderm*. Vergr. 75 >

Tabelle 4. Linsenbildung nach Linsenektodermtransplantation

	Wirt: Spender:	<i>Triturus alpestris</i> <i>Bombina variegata</i>	<i>Bombina variegata</i> <i>Triturus alpestris</i>
Total der Fälle		196	55
Eine Spenderlinse		4	10 ^a
Eine Spenderlinse + eine oder mehrere Wirtslinsen		42 ^b	12 ^c
Mehrere Spenderlinsen + eine Wirtlinse		3	
Chimärische Linse		2	1
Eine oder mehrere Wirtslinsen		122	23
Keine Linse		16	7
Einzelfälle		7	2

^a Davon 7 mit abnormer Lage zum Augenbecher.

^b Davon 6 mit abnormer Lage der Spenderlinse zum Augenbecher, 4 mit mehreren Wirtslinsen.

^c Davon 4 mit abnormer Lage zum Augenbecher.

Der Index des Chimärenauges C.V.I. (b/t) = 0,047 ist bedeutend kleiner als jener der *Trituruskontrollseite* W.K.V.I. (t/t) = 0,098.

Zwei weitere Fälle zeigen Chimärenindices von 0,046 und 0,010. Alle drei Indices sind deutlich kleiner als diejenigen entsprechender *Triturus*- oder *Bombina*-kontrollen. Die vom Wirtaugenbecher im *Bombinaspendermaterial* induzierte Linse ist demnach regelmäßig zu klein. Ähnliche Ergebnisse fanden wir auch bei den *Bombinawirten* mit transplantierten *Triturusaugenbechern* (s. S. 93).

Fall 16/2. Xenoplastische Transplantation der präsumptiven Kopfepidermis. Wirt: *Bombina variegata* (PM 12), Spender: *Triturus alpestris* (H 14+). Fixierung nach 7 Tagen.

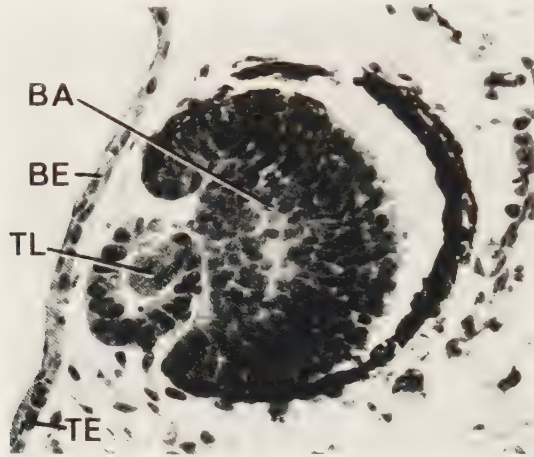


Abb. 18. Fall 16/2. Wirt: *Bombina*, Spender: *Triturus*. Chimärenauge des Typs I. Das transplantierte *Triturusektoderm* (TE), aus dem sich die kleine Linse (TL) gebildet hat, beginnt am ventralen Rand des *Bombinaaugenbechers* (BA). BE *Bombinaektoderm* (Grenze gestrichelt). Vergr. 220 ×

Das *Triturus*implantat überdeckt den Augenbecher kaum (Abb. 18). Trotzdem hat sich eine Spenderlinse gebildet, welche weit weniger differenziert ist als die gleichaltrigen Spender- bzw. Wirtskontrollinsen (vgl. Abb. 2a, g). Dennoch ist sie größer als die entsprechende Wirtskontrollinse. Es ergeben sich die Indices C.V.I. (t/b) = 0,068 und W.K.V.I. (b/b) = 0,059.

Die restlichen Fälle von Chimärenaugen des Typs I mit *Triturusspenderlinsen*, welche allerdings häufig keine ganz normal zusammengesetzten Augen bilden, zeigen mit dem durchschnittlichen Chimärenindex C.V.I. (t/b) = $0,089 \pm 0,072$ und dem Wirtskontrollindex W.K.V.I. (b/b) = $0,097 \pm 0,027$ wegen der extremen Streuung keine signifikante Differenz. Die Linsen bleiben jedoch im allgemeinen deutlich hinter der Kontrollgröße zurück, vermutlich weil der Kontakt zwischen Augenbecher und Epidermis selten sofort nach der Operation zustande kommt.

Fall 80/1. Xenoplastische Transplantation der präsumptiven Kopfepidermis. Wirt: *Triturus alpestris* (H 15), Spender: *Bombina variegata* (PM 13). Fixierung nach 6 Tagen.

Das Epidermistransplantat überdeckt den Wirtsaugenbecher dorsal (Abb. 19a). Dieser hat wie der *Triturusaugenbecher* auf der Kontrollseite (Abb. 19b) eine Wirtslinse induziert, welche auf der Operationsseite etwas weniger differenziert ist.

Von der *Triturus*linse zieht sich ein undifferenziertes, geschweiftes *Bombina*-lentoid, das erst im Begriff ist, sich von der Epidermis zu lösen, gegen den oberen Augenbecherrand. Zusammen bilden sie eine chimärische Linse.

Zwei entsprechende Fälle traten ebenfalls bei sehr jungen Tieren auf. Auch sie formten keine normal abgerundeten Linsenbläschen. Bei älteren Keimen wurde hingegen oft die Bildung zweier oder mehrerer gesonderter Linsen gefunden (Abb. 20).

In den zweilinsigen Fällen ($n=32$) mit *Bombina* als Ektodermspender und *Triturus* als Wirt ist festzustellen, daß die Wirtslinse (97) auf der operierten Seite

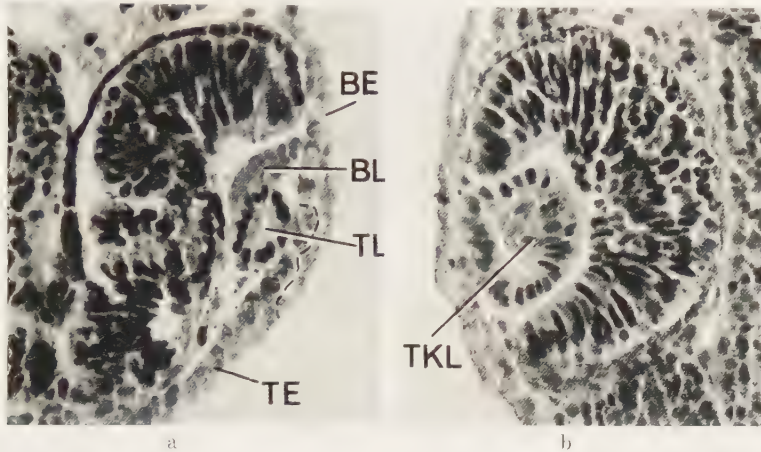


Abb. 19a u. b. Fall 80/1. Wirt: *Triturus*, Spender: *Bombina*. a Chimärisches Auge. Nach xenoplastischer Transplantation von *Bombina*ektoderm (BE) hat sich eine Chimärenlinse gebildet, die die Entstehung aus einer *Triturus*- (TL) und einer *Bombina*anlage (BL) erkennen läßt. Der *Bombinalinsenteil* ist erst in Abschnürung begriffen. TE *Triturus*epidermis (Epidermisgrenze gestrichelt). b Kontrollauge des *Triturus*wirtes. TKL *Triturus*kontrolllinse.

Vergr. 150 $\times$

im Durchschnitt deutlich größer ist als die aus dem Transplantat entstandene *Bombinalinse* (30). Beide zusammen erreichen nicht die Größe der Wirtslinse auf der Kontrollseite (176), sind aber etwa gleich weit differenziert. Die untransplantierte Linse des Spenders ist meist weiter entwickelt. Die Differenzierung erfolgt demnach im *Triturus*augenbecher verzögert.

In der reziproken Kombination mit *Triturus* als Ektodermspender und *Bombina* als Wirt ($n=8$) finden wir auf der operierten Seite durchwegs kleinere Wirts- und Spenderlinsen als auf der Kontrollseite. Die aus *Triturus*material bestehenden Spenderlinsen sind dabei mit Ausnahme einer einzigen größer als die im gleichen Auge liegenden Wirtslinsen (Abb. 21), jedoch erreichen sie nicht den gleichen Differenzierungsgrad. Wenn die Spenderlinse neben dem Augenbecher liegt, ist meist auch ihre Größe etwas zurückgeblieben.

Die Bildung mehrerer Linsen ist schon von v. WOELLWARTH (1961) und früheren Autoren bei den Arten *Triturus alpestris*, *Hyla arborea* und weiteren beobachtet worden (Lit. s. MANGOLD, 1931). ALEXANDER (1937) konnte Entsprechendes sogar nach Augentransplantationen beim Hühnchen feststellen. Bei

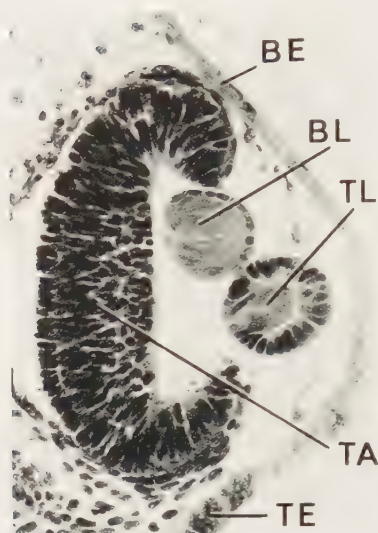


Abb. 20. Fall 83/7. Wirt: *Triturus*, Spender: *Bombina*. Nach Transplantation von *Bombina*-ektoderm (*BE*) bildeten sich zwei Linsen. Die *Triturus*linse (*TL*) des Wirts ist größer aber weniger weit differenziert als die *Bombinalinse* (*BL*). *TA* *Triturus*augenbecher, *TE* *Triturusepidermis*. Vergr. 150

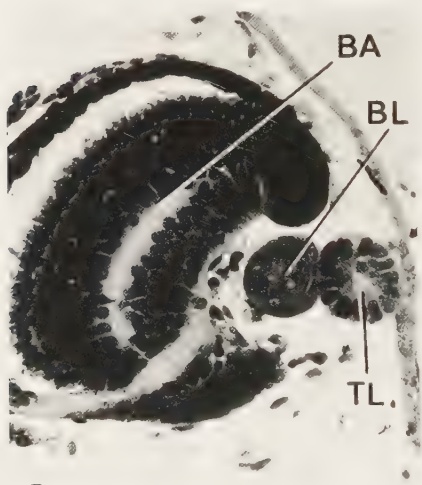


Abb. 21

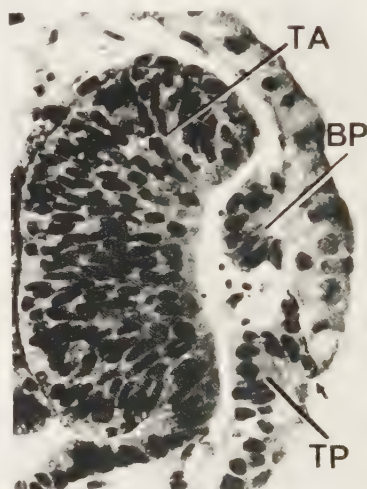


Abb. 22

Abb. 21. Fall 12/4. Wirt: *Bombina*, Spender: *Triturus*. Bildung zweier Linsen nach Transplantation von *Triturus*linsenektoderm. Die weiter entwickelte *Bombinalinse* (*BL*) ist kleiner als das *Triturus*linsenbläschen (*TL*). *BA* *Bombina*augenbecher (Epidermisgrenze beim Pfeil). Vergr. 190 ×

Abb. 22. Fall 14/61. Wirt: *Triturus*, Spender: *Bombina*. Die benachbarten Epidermisteile von *Triturus* unten und *Bombina* oben (Grenze gestrichelt) bilden unter der Induktionswirkung des *Triturus*augenbechers (*TA*) zwei gesonderte Linsenplakoden.

TP *Triturus*-plakode, *BP* *Bombina*plakode. Vergr. 220 ×

unsern Transplantationen von Linsenektoderm traten viele Fälle mit zwei oder mehreren Wirts- und Spenderlinsen auf. Schnittbilder jüngerer Keime zeigen, daß zwei aneinandergrenzende artfremde Epidermisteile unter dem Einfluß des Augenbeckers zwei gesonderte Linsenplakoden bilden (Abb. 22). Das Ektoderm, ob von *Triturus* oder *Bombina* stammend, reagiert demnach auf den Induktionsreiz des Augenbeckers autonom.

Die Fragen nach der Ursache der Doppellinsenbildung, nach den auftretenden Größenverhältnissen und nach dem seltenen Auftreten von chimärischen Linsen sollen in der Diskussion besprochen werden.

Diskussion

1. Entwicklung des xenoplastisch zusammengesetzten Augenbeckers

Unsere Ergebnisse zeigen, daß die Entwicklung des präsumptiven Augenbechermaterials im ordnungsfremden Wirt bei Bildung eines vollständigen Auges autonom verläuft. Besonders deutlich wird dies in der Differenzierung der Retina und des Pigmentepithels von *Triturus* und *Bombina* bzw. *Rana* oder *Hyla* (s. auch CHEN und FISCHER, 1964). Daß die arteigenen Entwicklungsgeschwindigkeiten in der xenoplastischen Chimäre von *Triturus* und *Bombina* beibehalten werden, entspricht offenbar einem allgemeinen Prinzip, dessen Gültigkeit von CHEN (1953, 1955) für die Myotome, von WAGNER (1949) für das Viszeralskelet, von ROTH (1950) und EYMANN (1957) für das Nervensystem und von ANDRES (1949) für das Labyrinth festgestellt werden konnte.

Das linsenlose Spenderauge entwickelt sich im artfremden Wirt fast normal in bezug auf seine Größe, seine Retina ist jedoch weit weniger differenziert als jene des vollständigen Spenderauges (Abb. 11a, b). Entsprechendes gilt für wirts-eigene Augenbecher, denen eine Linse fehlt. Die Retina wirkt induzierend auf das Linsenektoderm und erhaltend auf die Linse, während die Linse umgekehrt schon in frühen Entwicklungsstadien die Differenzierung der Retina fördert. Zwischen Linse und Retina laufen demnach verschiedene Interaktionen ab, welche nach LOPASHOV (1939) auf stofflicher Basis beruhen. Trotz intensiver Forschung konnte bisher die chemische Natur der Linseninduktionsstoffe nicht eindeutig festgestellt werden (RICKENBACHER, 1952; MCKEEHAN, 1956; SIRLIN und BRAHMA, 1959; WEISS und JACKSON, 1961; ZWAAN und IKEDA, 1966; YAMADA, 1967). Noch weniger weiß man über die stoffliche Wirkung der Linse auf die Retina. Linsenantigene, welche anhand immunochemischer Untersuchungen von CLARKE und FOWLER (1960) festgestellt wurden, kommen als Induktionsstoffe nicht in Frage, da sie während der Induktionsphase weder in der Retina noch sonst außerhalb der Linse auftreten (TAKATA et al., 1964).

In bezug auf die morphologische und die histologische Gestaltung des Augenbeckers ergeben unsere xenoplastischen Transplantationen der Augenbecheranlage ein sehr heterogenes Bild. Ein einzelnes, vom Wirt oder vom Spender stammendes Anlagenfragment, das nicht nur aus Tapetummaterial besteht, rundet sich zu einem verkleinerten, aber vollständigen Augenbecher mit Retina, Irisrand, Tapetum nigrum und Nervus opticus ab. Dies bedeutet, daß bis ins Neurulastadium eine morphologische Regulationsfähigkeit der Augenbecheranlage besteht (Literaturangaben bei MANGOLD, 1931 und LOPASHOV, 1963).

Zwei sich berührende ordnungsfremde Anlagenfragmente runden sich zum morphologisch normalen Augenbecher ab. Ähnliche Feststellungen machten bei der Kombination gleichartiger Augenbecher DETWILER (1929), PASQUINI (1929), COTRONEI und SPIRITO (1930). Jede Anlage entwickelt sich dabei zu einem von Tapetum nigrum umschlossenen Teil des gemeinsamen Augenbechers. Nur wenn beide Anlagen das gleiche Entwicklungsalter aufweisen und sich ergänzen, gehen die einzelnen ordnungsfremden Gewebe ineinander über und bilden somit einen auch histologisch harmonisch zusammengesetzten Chimärenaugenbecher. In allen andern Fällen wird die histologische Regulation offenbar durch die verschiedenen Entwicklungsgeschwindigkeiten der Partnergewebe beschränkt.

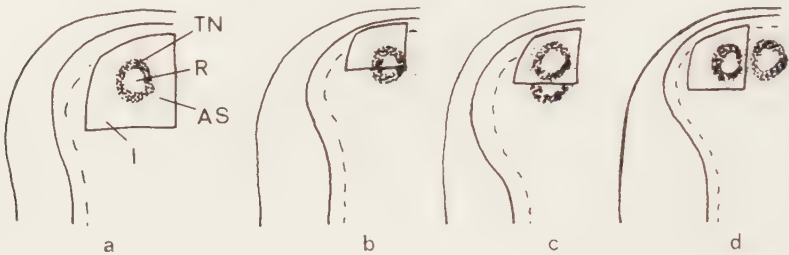


Abb. 23a—d. Entstehungsweisen der Chimärentypen I—IV nach Transplantation der Augenbecheranlage. Zoneneinteilung der Anlage modifiziert nach MANGOLD (1931). *R* Retina, *TN* Tapetum nigrum, *AS* Augenstiel, *I* Implantat. a Chimärentyp I: Ganze Anlage ersetzt. b Chimärentyp II: Teile der Anlage genau passend ersetzt. c Chimärentyp III: Teil der Anlage durch vollständige Anlage ersetzt. d Chimärentyp IV: Ganze Anlage neben verbliebene Restanlage implantiert

Anhand seiner Versuche bei *Hyla regilla* zeigte EAKIN (1947), daß nach Umkehrung der Polarität der Retina im Schwanzknospenstadium oft keine vollständige Regulation mehr erfolgt. Ähnliche Beobachtungen unsererseits weisen darauf hin, daß die Determination der Retinaschichtung bei *Hyla arborea* und eventuell auch bei *Bombina variegata* schon im Neurulastadium erfolgt.

Wir nehmen somit an, daß die verschiedenen Typen von chimärischen Augenbechern wie folgt entstehen:

In Chimären vom Typ I wird die ganze Wirtsanlage exstirpiert und die ganze Spenderanlage oder Teile davon implantiert, woraus ein vollständiger Spenderaugenbecher entsteht (Abb. 23a). Beim Typ II werden Spender- und Wirtsanlage mittlen durchgeschnitten und passend zusammengesetzt, wodurch sich ein morphologisch und histologisch harmonischer Chimärenaugenbecher entwickelt (Abb. 23b). Beim Typ III grenzen nach der Transplantation die beiden Anlagen mit der Tapetumzone aneinander, wodurch zwei gesonderte Bulbi gebildet werden, die jedoch einen gemeinsamen Becher formen (Abb. 23c). Beim Typ IV ist anzunehmen, daß zwischen den Anlagenfragmenten Gehirnmaterial liegt. Dadurch entwickeln sich zwei getrennte Augenbecher, die durch ihre eigenen Augenstiele mit den entsprechenden Gehirnanteilen in Verbindung stehen (Abb. 23d).

2. Induktion und Entwicklung der Linse im xenoplastisch zusammengesetzten Chimärenauge

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß der Augenbecher von *Bombina* bzw. *Hyla* oder *Rana*, orthotop in *Triturus* transplantiert, eine normale Linse aus dem ordnungsfremden Kopfektoderm zu induzieren vermag. Dasselbe gilt für die reziproke Kombination von *Triturus*augenbechern in *Bombina*wirten (s. Tabelle 3). Ein einziges vergleichbares Resultat erhielt HOLTFRETER (1935), als bei xenoplastischer Ektodermtransplantation im Gastrulastadium eine *Triturus*linse über der *Hylaretina* entstand. Heteroplastische Linseninduktionen waren bekannt aus den Versuchen von FILATOW (1925), HARRISON (1929), TWITTY und ELLIOT (1934), ROTMANN (1939), BALINSKY (1957). In allen diesen Fällen kann der Induktionsstoff des arteigenen Augenbeckers durch einen artfremden ersetzt werden. Unsere Chimärenaugenbecher der Typen II und III zeigen im weitem, daß Linseninduktionsstoffe verschiedener Arten gemeinsam eine Linse induzieren können.

In unsern Ergebnissen fallen zwei Unterschiede zwischen den reziproken Kombinationen von *Triturus* und *Bombina* auf. In Tabelle 5 sind die Häufigkeiten erfolgreicher Linseninduktionen durch artfremde Augenbecher zusammengestellt. Danach treten sowohl bei Transplantationen von Augenbecheranlagen als auch von Linsenektoderm viel häufiger chimärische Augen mit *Triturus*linse über *Bombina*augenbecher als solche der umgekehrten Zusammensetzung auf. Ferner zeigt der Vergleich der Einzelergebnisse bei den Augenbechertransplantationen (s. S. 88ff.), daß der Entwicklungszustand der xenoplastisch induzierten *Triturus*linsen sowohl über artreinen *Bombina*augenbechern als auch über chimärischen Augenbechern im allgemeinen jenem der *Triturus*kontrollinsen entspricht. Im Gegensatz dazu sind *Bombinal*insen über *Triturus*augenbechern sowie über chimärischen Augenbechern, die vorwiegend aus *Triturus*material bestehen, meist weniger weit entwickelt als die Kontrollinsen der artreinen *Bombina*augen.

Tabelle 5. Häufigkeit erfolgreicher Linseninduktionen durch artfremde Augenbecher

Kombination	Transplantat	Total Fälle	Fälle mit Linse
<i>Triturus</i> linse über <i>Bombina</i> augenbecher	Augenbecheranlage	27	89%
	Linsenanlage	55	42%
<i>Bombinal</i> inse über <i>Triturus</i> augenbecher	Augenbecheranlage	30	20%
	Linsenanlage	196	25%

Unter Berücksichtigung der verschiedenen Entwicklungsgeschwindigkeiten der verwendeten Arten lassen sich diese Ergebnisse erklären. Die Linseninduktion verläuft nach JACOBSON (1966) in drei Phasen. Während der Gastrulation unterlagert und induziert das Urdarmdach die zukünftige Linsenanlage. In der frühen Neurula wirkt das seitliche Herzmesoderm als zweiter Linseninduktor. Erst während der Ausstülpung des Augenbläschens tritt der Augenbecher als Hauptinduktor in Funktion. In der langsamen Entwicklung von *Triturus* erstrecken

sich die drei Induktionsphasen bis zur Abschnürung des Linsenbläschens über mindestens 6 Tage. Auch nachher bleiben Augenbecher und Ektoderm miteinander in Kontakt. Bei *Bombina* ist die Induktionszeit um etwa $1\frac{1}{2}$ Tage kürzer, und der zur Induktion nötige Kontakt zwischen Augenbecher und Kopfeptidermis wird früh unterbrochen, weil sich die *Bombina*eptidermis schon im Schwanzknospenstadium vom Augenbecher abzuheben beginnt. Dennoch können die beiden Arten eine äquivalente Induktionsleistung erbringen. Dies läßt vermuten, daß die Induktion bei *Bombina* mit größerer Intensität erfolgt als bei *Triturus*, was im folgenden zu beweisen ist.

Die vorbereitende Linseninduktion durch das Urdarmdach und das Herzmesoderm reicht offenbar bei *Triturus alpestris* nicht aus für eine autonome Differenzierung von Linsen. Zur Linsenbildung ist entweder der Augenbecher, atypische Induktoren wie Nase, Ohrbläschen, Gehirn oder längere Einwirkung der entomesodermalen Induktionsfaktoren nötig (MANGOLD, 1961). Wie unsere Experimente zeigen, kann der *Bombina*augenbecher in *Triturus* als auslösender Linseninduktor wirken. Er ist im Gegensatz zu den atypischen Induktoren fähig, im Extremfall sogar größere Linsen zu induzieren als die entsprechenden *Triturus*kontrollaugenbecher. Die Induktionswirkung des *Bombina*augenbechers ist demnach so groß, daß sie auch zur Linseninduktion ausreicht, wenn nur ein kleiner Teil des Spenderaugenbechers die Kopfeptidermis des *Triturus*keimes berührt.

In der xenoplastischen Augenchimäre mit *Triturus*augenbecher dagegen wird nur selten eine Linse induziert. Die offenbar schwache Linseninduktionskapazität des *Triturus*augenbechers bewirkt nur unter optimalen Transplantationsbedingungen Linsenbildung. Meist ist der Kontakt zwischen *Triturus*augenbecher und sich abhebendem *Bombina*ektoderm ungenügend und zu kurz.

Es stellt sich hier die Frage, weshalb sich in den Keimen mit verschiedenartiger Kopfeptidermis meist keine chimärische Linse bildet. Wie gezeigt wurde, ist das im Neurulastadium transplantierte Kopfektoderm während der Gastrula und in der frühen Neurula durch das unterlagernde Urdarmdach und das Herzmesoderm schon weitgehend als Linsenanlage determiniert worden (JACOBSON, 1966). Der Induktionsreiz, der nach der Operation durch den Augenbecher gegeben wird, bewirkt, daß das Ektoderm von *Bombina* etwas schneller, das von *Triturus* etwas langsamer mit Linsenbildung reagiert. Hier, wie beim Augenbecher des Typs III, könnten also die verschiedenen Entwicklungsgeschwindigkeiten dafür verantwortlich sein, daß zwei Organe gebildet werden.

Im weitem kann auch der Wundverschluß verhindern, daß eine gemeinsame Linsenplakode abgehoben wird. So bilden sich meist 2 oder 3 Linsen, wenn ohne vorherige Entfernung der Wirtsanlage ein Linsenektodermstreifen des Spenders orthotop transplantiert wird. Nach einzelnen Beobachtungen können sich Lentoide sogar aus dem Gewebe des Wundverschlusses bilden.

Wie Farbmarkierungsversuche von v. WOELLWARTH (1960) zeigten, verschiebt sich das transplantierte Kopfektoderm während der Entwicklung des Keimes. Dadurch gelangen aufeinanderfolgend verschiedene Ektodermteile in den Induktionsbereich des Augenbechers, welcher fähig ist, nacheinander mehrere Linsen

zu induzieren (MANUILOWA, 1938). So entsteht häufig neben einer vollständig entwickelten Linse mit Faserkegel ein zurückgebliebenes Lentoid.

3. Größenverhältnisse im Chimärenauge

Größe des transplantierten Augenbechers

Der Spenderaugenbecher erreicht im Chimärentyp I die Spenderkontrollgröße nicht. Dabei spielen folgende Gründe eine Rolle: 1. Es wurde nicht die ganze Anlage transplantiert. Dies trifft sicher zu, wenn beim Spender noch eigene Augenbecherteile auf der Operationsseite entstanden sind. Das mittlere Augenbechervolumen ist allerdings auch bei Keimen, deren Partner keinen Rest mehr enthält, kleiner als bei normaler Entwicklung. 2. Trotz autonomer Differenzierung des Transplantats mag es sein, daß ein Teil des Anlagenmaterials durch den Operationswundverschluß an der Augenbecherbildung gehindert wird. Der als dritte Ursache in Frage kommende Ernährungsfaktor (HARRISON, 1929) fällt kaum in Betracht, werden doch immerhin 25% der transplantierten Augenbecher gleich groß oder größer als die Kontrollaugenbecher.

Linsengröße

Im normalen Auge ist die Linsengröße vom Augenbecher abhängig (HARRISON, 1929; MANGOLD, 1931; SPEMANN, 1936; TWITTY, 1955). Daneben spielen auch linseneigene Faktoren eine Rolle (ROTMANN, 1939, 1942; BALINSKY, 1951, 1957). Im xenoplastischen Chimärenauge von *Triturus* und *Bombina* zeigen sich weitere Einflüsse bei der Größenbestimmung der Linse. 1. Auf Grund der verschiedenen Linsenbildungshäufigkeiten postulierten wir, daß die Retina von *Bombina* als Linseninduktor bedeutend stärker wirke als jene von *Triturus* (s. S. 106). 2. Da sich einmal induzierte freie Linsen von *Triturus* in Größe und Differenzierung praktisch normal entwickeln, während bei *Bombina* nur kleine, undifferenzierte Lentoide entstehen (BECKER, 1959; MANGOLD, 1961), ist anzunehmen, daß das *Triturus*sektoderm auf die Induktion vom Augenbecher stärker reagiert als das *Bombina*sektoderm. Diese beiden Faktoren wirken sich offenbar im Chimärenauge mit *Triturus*linsenektoderm und *Bombina*augenbecher aus in der Abschnürung eines zu großen Linsenbläschens.

Der Augenindex C.V.I. (t/b) = $0,121 \pm 0,041$ liegt bei diesen Chimären höher als derjenige der *Bombina*- und der *Triturus*kontrollen. Bei völlig autonomer Entwicklung von Wirtslinse und Spenderaugenbecher wäre sogar ein theoretischer Linsenindex von 0,136 zu erwarten gewesen, entsprechend dem Quotienten aus der durchschnittlichen Kontrollgröße der *Triturus*linse und des *Bombina*augenbechers. Die zugehörige Regressionsgerade müßte wegen des schnellen *Triturus*linsenwachstums und des langsamen *Bombina*augenbecherwachstums sehr steil verlaufen. Nun ist aber der erhaltene Chimärenindex kleiner, und die Chimärenregressionsgerade verläuft flacher, parallel zu derjenigen von *Bombina*. Das *Triturus*linsenwachstum entspricht also im Chimärenauge dem Wachstum einer *Bombinalinse* über dem *Bombina*augenbecher, wobei jedoch zu Beginn ein größeres Linsenbläschen abgeschnürt wird, als dies bei *Bombina*material der Fall wäre.

Im heteroplastischen Experiment fand BALINSKY (1957) einen dem Ektoderm eigenen Begrenzungsfaktor der Linsengröße, der die Linse einer kleineren Art über dem Augenbecher einer größeren Art nicht über ein bestimmtes, stadienabhängiges Maß hinaus wachsen läßt. Unsere Experimente zeigen, daß im reziproken Fall (kleiner Augenbecher mit großer Linse) ein auf der Wirkung des Augenbeckers beruhender Faktor festzustellen ist, der die Zunahme der Linsengröße auf ein augenbechertypisches Maß beschränkt, nachdem ursprünglich vom kleinen Spenderaugenbecher ein zu großes Linsenbläschen induziert worden ist.

Die gleichen Faktoren bewirken, daß bei der Kombination von *Bombina*-linsenektoderm mit *Triturus*augenbechermaterial signifikant kleinere Augenindices $[C.V.I. (b/t) = 0,028 \pm 0,027]$ auftreten als bei den Kontrollen. Bei autonomer Entwicklung von Linse und Augenbecher wäre ein Chimärenindex von ca. 0,06 zu erwarten. Die geringe Induktionsstärke des *Triturus*augenbeckers und die kurze Induktionsdauer, die durch das frühzeitige Abheben der *Bombina*-epidermis bedingt ist, ergeben jedoch eine schwache Induktionswirkung. Diese induziert im *Bombina*ektoderm eine Linse, die sich zwar normal differenzieren kann, aber nur die Größe eines Lentoids erreicht.

4. Wolffsche Linsenregeneration

Bekanntlich hat im Urodelenauge bei fehlender oder extirpierter Linse der obere Irisrand die Möglichkeit zu Wolffscher Linsenregeneration (Zusammenfassung des Problems s. SCHEIB, 1965). Erstaunlicherweise wird diese auch im xenoplastischen Chimärenauge mit Urodelenaugenbecher und Anurenlinsenektoderm beibehalten. So zeigten bei uns 4 Fälle mit transplantierten *Triturus*augenbechern in *Bombina*keimen, die 7 Tage nach Neurulation noch keine normalen Linsen gebildet hatten, Ansätze Wolffscher Linsen in verschiedenen Stadien nach SATO (1940). Das Augenbechermaterial wurde offenbar durch das Anurenmilieu nicht gehindert an der Wolffschen Linsenregeneration, die bei Anuren bisher nicht festgestellt werden konnte.

Warum bildet der Urodelenaugenbecher im chimärischen Auge neben der Anurenlinse nicht ebenfalls ein Linsenregenerat? Offenbar vermag die *Bombina*-linse den gleichen hemmenden Einfluß auf den regenerationsbereiten Irisrand auszuüben wie die *Triturus*linse (s. auch IKEDA und KOJIMA, 1940). Der Linsenfaktor, welcher im vollständigen Urodelenauge die Wolffsche Linsenregeneration verhindert, wird also auch in der Linse von Anuren gebildet.

Nach den Beobachtungen von REYER (1954) ist der Augenbecher erst zu Wolffscher Linsenregeneration bereit, wenn die fünfschichtige Retina differenzierte Sinneszellen und einen optischen Nerv aufweist. Nach unsern Ergebnissen steht außer Zweifel, daß früheste Linsen-„Regenerate“ in den linsenlosen Fällen auch auftreten, wenn die *Triturus*retina noch undifferenziert ist, allerdings in einem *Bombina*wirt, dessen Kontrollaugenbecher die von REYER beobachteten Voraussetzungen erfüllt. Wir fragen uns deshalb, ob die Bereitschaft zur Wolffschen Linsenregeneration vom umgebenden Wirtsmilieu bedingt werde. Eine Antwort darauf könnten Experimente geben, bei denen *Triturus*augenbläschen aus Keimen im Schwanzknospenstadium in Köpfe etwas älterer Larven mit einseitig extirpiertem Auge transplantiert würden.

5. Unverträglichkeit bei xenoplastischen Augenchimären

In Extraktversuchen und anhand von Transplantationsexperimenten stellt BYTINSKY-SALZ (1929) für Anurenimplantate eine Giftigkeitsreihe gegenüber *Triturus* auf. Es ergibt sich folgende Abstufung der Unverträglichkeit: *Pelobates* > *Bufo* > *Rana* > *Hyla* > *Bombina* > *Triturus*. Unsere Versuche können diesen Befund in bezug auf die verwendeten Arten bestätigen.

Zwischen primärer und sekundärer Unverträglichkeit unterscheidet ROTH (1949). Primäre Unverträglichkeit tritt kurz nach der Operation auf. Sekundäre zeigt sich nur beim Implantat und erst nach einer gewissen Zeit gemeinsamer Differenzierung. Beide Unverträglichkeiten kommen auch bei xenoplastischen Augenchimären vor.

a) Primäre Unverträglichkeit. In unsern Experimenten trat sie vorwiegend bei Transplantation von *Triturus*augenbechermaterial in *Hyla*- oder *Rana*wirte auf. Bei Linsentransplantation wurde das *Triturus*implantat nur mit *Rana* als Wirt ausgestoßen.

b) Sekundäre Unverträglichkeit. Von *Hyla*, *Rana* oder *Bombina* auf *Triturus* transplantiertes Augenbechermaterial vermag sich über längere Zeit im Wirt zu halten. Dies gilt insbesondere, wenn der entstehende Augenbecher von Pigmentepithel umhüllt ist. Fehlt dieses, so tritt bei *Bombina* vom 11. Tag an, bei *Hyla* und *Rana* schon früher, Degeneration ein. Sie ist durch Kernpyknosen im Spendermaterial und durch Akkumulation von Wirtsphagozyten gekennzeichnet. Die von EAKIN und HARRIS (1945) sowie von ANDRES und ROTH (ROTH, 1949) beobachtete Bildung eines fibrillären Mesenchymmantels als letzte Wirtsreaktion auf das artfremde Implantat trat bei keinem unserer Keime auf, weil sie in jüngeren Stadien fixiert wurden.

Anhand unserer Ergebnisse und derer von ANDRES (1949) sowie ANDRES und ROTH (1949) läßt sich eine feste Reihenfolge des Degenerationsbeginns einzelner Implantatsgewebe von *Bombina* in *Triturus* feststellen. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß die Degeneration bei größerem Implantat später eintritt (EYMANN, 1957). Die Degeneration beginnt auf Grund sekundärer Unverträglichkeit bei auf 18° C gehaltenen Chimären am 8. Tag im Neuralmaterial, am 11. im Augenbecher, nach dem 13. in Linse und Epidermis und nach dem 25. in Labyrinth, Kopf- und Spinalganglien. Das Spenderpigment verschwindet nach BALTZER (1941) erst kurz vor der Metamorphose.

Literatur

- ALEXANDER, L. E.: An experimental study of the role of optic cup and overlying ectoderm in lens formation in the chick embryo. *J. exp. Zool.* **75**, 41—74 (1937).
ANDRES, G.: Untersuchungen an Chimären von *Triton* und *Bombinator* Teil I: Entwicklung xenoplastischer Labyrinth und Kopf ganglien. *Genetica* **24**, 387—534 (1949).
—, u. H. ROTH: Die verschiedene Lebensdauer reziproker Transplantate in Molch-Unkenchimären. *Rev. suisse Zool.* **56**, 298—305 (1949).
BALINSKY, B. I.: On the eye-cup — lens correlation in some south african amphibians. *Experientia* (Basel) **7**, 180—186 (1951).
— On the factors determining the size of the lens rudiment in amphibian embryos. *J. exp. Zool.* **135**, 255—299 (1957).

- BALTZER, F.: Untersuchungen an Chimären von Urodelen und *Hyla*. Rev. suisse Zool. **48**, 413—482 (1941).
- Entwicklungsphysiologische Betrachtungen über Probleme der Homologie und Evolution. Rev. suisse Zool. **57**, 451—477 (1950).
- Experimentelle Beiträge zur Frage der Homologie. Experientia (Basel) **8**, 285—297 (1952).
- BECKER, U.: Untersuchungen über die Abhängigkeit der Linsenbildung von der Wirtsregion bei *Triturus vulgaris*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **152**, 339—372 (1959).
- BYTINSKY-SALZ, H.: Untersuchungen über das Verhalten des präsumptiven Gastrulaektoderms der Amphibien bei heteroplastischer und xenoplastischer Transplantation ins Gastrocoel. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **114**, 594—664 (1929).
- CHEN, P. S.: Die Entwicklung des Ursegmentmaterials von *Bombinator* im Tritonkeim (Transplantation im Gastrulastadium). Rev. suisse Zool. **60**, 516—523 (1953).
- Xenoplastische Transplantation des Chorda- und Myotommaterials zwischen *Triton alpestris* und *Bombinator pachypus* im Gastrula- und Neurulastadium. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **147**, 634—686 (1955).
- , u. A. FISCHER: Zur Entwicklung der xenoplastischen Augenchimären. Rev. suisse Zool. **71**, 147—166 (1964).
- CLARKE, M. W., and I. FOWLER: The inhibition of lens inducing capacity of the optic vesicle with adult lens antisera. Develop. Biol. **2**, 155—172 (1960).
- COTRONEI, G., e A. SPIRITO: Processi di sviluppo e di regolazione nei trapianti di abozzi embrionali di Anuri in embrioni di Urodeli. Monit. zool. ital. **40**, 425—429 (1930).
- DETWILER, S. R.: Some observations upon grafted eyes of frog larvae. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **116**, 555—566 (1929).
- EAKIN, R. M.: Determination and regulation of polarity in the retina of *Hyla regilla*. Univ. Calif. Publ. Zool. **51**, 245—288 (1947).
- , and M. HARRIS: Incompatibility between amphibian hosts and xenoplastic grafts as related to host age. J. exp. Zool. **98**, 35—64 (1945).
- ECKMAN, G.: Experimentelle Beiträge zum Linsenbildungsproblem bei den Anuren mit besonderer Berücksichtigung von *Hyla arborea*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **39**, 328—351 (1914).
- EYMAN, H.: Weitere Untersuchungen an xenoplastischen Neuralchimären von *Triton* und *Bombinator*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **149**, 267—332 (1957).
- FILATOW, D.: Ersatz des linsenbildenden Epithels von *Rana esculenta* durch Bauchepithel von *Bufo vulgaris*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **105**, 475—482 (1925).
- HARRISON, R. G.: Heteroplastic transplantation of the eye in *Amblystoma*. Anat. Rec. **31**, 299 (1925).
- Correlation in the development and growth of the eye studied by means of heteroplastic transplantation. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **120**, 1—55 (1929).
- HERBST, C.: Formative Reize in der tierischen Ontogenese. Leipzig 1901.
- HOLTFRETER, J.: Morphologische Beeinflussung von Urodelenektoderm bei xenoplastischer Transplantation. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **133**, 367—426 (1935a).
- Über das Verhalten von Anurenektoderm in Urodelenkeimen. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **133**, 427—494 (1935b).
- Studien zur Ermittlung der Gestaltungsfaktoren in der Organentwicklung der Ampibien. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **139**, 227—273 (1939).
- IKEDA, Y., u. T. KOJIMA: Zur Frage der paralysierenden Wirkung der Linse auf die auslösenden Faktoren für die Wolffsche Linsenregeneration. Jap. J. med. Sci. (I. Anat.) **8**, 51—73 (1940).
- JACOBSON, A. G.: The roles of neural and non-neural tissues in lens induction. J. exp. Zool. **139**, 525—557 (1958).
- Inductive processes in embryonic development. Science **152**, 25—34 (1966).
- LEHMANN, E.: Das Prinzip der kombinativen Einheitsleistung in der Biologie, im besonderen in der experimentellen Entwicklungsgeschichte, und seine Beziehung zur Gestalttheorie. Biol. Zbl. **53**, 471—496 (1933).
- LEWIS, W. H.: Experimental studies on the development of the eye in Amphibia. III. On the origin and differentiation of the lens. Amer. J. Anat. **6**, 473—509 (1907).

- LIEDKE, K. B.: Lens competence in *Amblystoma punctatum*. J. exp. Zool. **117**, 573—592 (1951).
- Studies on lens induction in *Amblystoma punctatum*. J. exp. Zool. **130**, 353—379 (1955).
- LOPASHOV, G. V.: On the character of cell changes in neural plate induction. C. R. Acad. Sci. URSS **24**, 205—208 (1939).
- Developmental mechanisms of vertebrate eye rudiments. London: Pergamon Press 1963.
- , and O. G. STROEVA: Morphogenesis of the vertebrate eye. Advanc. Morph. **1**, 331—377 (1961).
- MANGOLD, O.: Das Determinationsproblem. III. Das Wirbeltierauge in der Entwicklung und Regeneration. Ergebn. Biol. **7**, 193—403 (1931).
- Freie Linsen in augenlosen Köpfen und Isolaten von *Triturus alpestris*. Acta morph. Acad. Sci. hung. **10**, 153—176 (1961).
- MANULOWA, N. A.: Lens-building power of the eyecup in amphibians as affected by repeated induction. C. R. Acad. Sci. URSS **18**, 689—692 (1938).
- MCKEEHAN, M. S.: The relative ribonucleic acid content of lens and retina during lens induction in the chick. Amer. J. Anat. **99**, 131—156 (1956).
- PASQUINI, P.: Fenomeni di regolazione e di riparazione nello sviluppo dell'occhio degli Anfibi (risultati di nuovi esperimenti di asportazione e trapianto della vescicola ottica in *Pleurodeles*, *Axolotl* e *Rana*). R. C. Accad. naz. Lincei., Cl. sci. fis., mat. e nat. **9**, 99—104 (1929).
- REYER, R. W.: Regeneration of the lens in the amphibian eye. Quart. Rev. Biol. **29**, 1—49 (1954).
- RICKENBACHER, J.: Die Nukleinsäuren in der Augenentwicklung bei Amphibien und beim Hühnchen. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **145**, 387—402 (1952).
- ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. München: R. Oldenbourg (1948).
- ROTH, H.: Unverträglichkeitsreaktionen bei Amphibienchimären. Rev. suisse Zool. **56**, 291—298 (1949).
- Die Entwicklung xenoplastischer Neuralchimären. Rev. suisse Zool. **57**, 621—686 (1950).
- ROTMANN, E.: Der Anteil von Induktor und reagierendem Gewebe an der Entwicklung der Amphibienlinse. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **139**, 1—49 (1939).
- Über den Auslösungscharakter des Induktionsreizes bei der Linsenentwicklung. Versuche mit experimentell verkleinerten bzw. vergrößerten Augenbechern bei *Triton taeniatus*. Biol. Zbl. **62**, 154—170 (1942).
- RUGH, R.: Experimental embryology. Minneapolis: Burgen Publ. Co. 1941.
- SATO, T.: Vergleichende Studien über die Geschwindigkeit der Wolffschen Linsenregeneration bei *Triton taeniatus* und bei *Diemyctylus pyrrhogaster*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **140**, 570—613 (1940).
- SCHEIB, D.: Recherches récentes sur la régénération du cristallin chez les vertébrés. Evolution du problème entre 1931 et 1963. Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch. **38**, 46—114 (1965).
- SIRLIN, I. L., and S. K. BRAHMA: Studies on embryonic induction using radioactive tracers. II. The mobilization of protein components during induction of the lens. Develop. Biol. **1**, 234—246 (1959).
- SPEMANN, H.: Über Korrelation in der Entwicklung des Auges. Verh. anat. Ges. **15**, 61—79 (1901).
- Über eine neue Methode der embryonalen Transplantation. Verh. dtsh. zool. Ges. 195—202 (1906).
- Zur Entwicklung des Wirbeltierauges. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. **32**, 1—98 (1912).
- Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung. Berlin: Springer 1936.
- TAKATA, C., J. F. ALBRIGHT, and T. YAMADA: Lens antigens in a lensregenerating system studied by the immunofluorescent technique. Develop. Biol. **9**, 385—392 (1964).
- TWITTY, V.: Eye. In: Analysis of development, p. 402—414. Philadelphia: Saunders 1955.
- , and H. A. ELLIOT: The relative growth of the amphibian eye studied by means of transplantation. J. exp. Zool. **68**, 247—291 (1934).
- WAERDEN, B. L. VAN DER: Mathematische Statistik. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1965.

- WAGNER, G.: Die Bedeutung der Neuralleiste für die Kopfgestaltung der Amphibienlarven. Untersuchungen an Chimären von *Triton* und *Bombinator*. Rev. suisse Zool. **56**, 519—620 (1949).
- WEISS, P., and S. F. JACKSON: Fine structural changes associated with lens determination in the avian embryo. Develop. Biol. **3**, 532—554 (1961).
- WOELLWARTH, C. v.: Über das Anlagemuster und die Kinematik des Ektoderms, insbesondere der präsumptiven Epidermis, im Neurula- und Schwanzknospenstadium von *Triturus alpestris*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **152**, 602—631 (1960).
- Die Rolle des Neuralleistenmaterials und der Temperatur bei der Determination der Augenlinse. Embryologia **6**, 219—242 (1961).
- YAMADA, T.: Differentiation of lens cells. In: Morphological and biochemical aspects of cytodifferentiation. Exp. Biol. Med. **I**, 77—89 (1967).
- ZWAAN, J., and A. IKEDA: Immunochemical studies on the differentiation of the chicken eye lens. Second Conference on Lens Differentiation, Morgantown, West Virginia 1966.

A. F. TH. FISCHER

Zoologisch-Vergl. Anatomisches Institut d. Universität Zürich
CH-8006 Zürich, Künstlergasse 16

Curriculum vitae

ANDREAS FELIX THEODOR FISCHER

Am 29. November 1939 wurde ich als Bürger von Küsnacht und Meisterschwanden in Zürich geboren. An der Oberrealschule in Zürich, die ich vom Frühling 1953 bis Herbst 1958 besuchte, erwarb ich das Maturitätszeugnis des Typus C. Anschließend immatrikulierte ich mich zum Zoologie-Studium mit den Nebenfächern Chemie, Allgemeine und Systematische Botanik, Anthropologie und Mathematik an der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich, wo ich nach zwei bestandenen Vorprüfungen im Februar 1964 die Schlußprüfung für das Diplom absolvierte.

Unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. P. S. CHEN führte ich von 1964 bis 1968 meine Doktorarbeit aus.

Während meiner Studienzeit besuchte ich Vorlesungen, Übungen und Praktika bei den Damen und Herren Professoren und Dozenten AKERT, ANDERS, BACHOFEN, BIEGERT, BURLA, CHEN, DAUMER, ERNST-SCHWARZENBACH, GROB, HADORN, HAUSCHTECK, HEDIGER, HELBLING, KARRER, KUHN-SCHNYDER, LEUPOLD, MARKGRAF, OBERHOLZER, PEISL, RICH, RUTISHAUSER, SAUTER, SCHLITTLER, SCHMID, SCHULTZ, SCHUMACHER, SEMENZA, SLOWIK, STEINER, TARDENT, THOMAS, TÖNDURY, URSPRUNG, V. D. WAERDEN, WALTER und WANNER.

Seit 1963 bin ich am Freien Gymnasium in Zürich als Hilfslehrer, seit 1967 als Hauptlehrer für Biologie und Chemie tätig.

